

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
KEMIJSKI ODSJEK

IVANA FRŽIĆ

**PRIPRAVA LIPOFILNIH ETERSKIH DERIVATA  
3-HIDROKSIPIRIDIN-4-ONA  
I ALKIL-BROMACETATA**

**Diplomski rad**

**Zagreb, 2016.**

IVANA FRŽIĆ

**PRIPRAVA LIPOFILNIH ETERSKIH DERIVATA  
3-HIDROKSIPIRIDIN-4-ONA I ALKIL-BROMACETATA**

**Diplomski rad**

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog stupnja

magistre kemije

**Zagreb, 2016.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u laboratoriju Zavoda za organsku kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Vesne Petrović Peroković i neposrednim vodstvom dr. sc. Željke Car, u sklopu diplomskog sveučilišnog studija kemije pri Kemijskom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## ZAHVALE

*Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Vesni Petrović Peroković koja mi je pomogla prilikom izrade ovog diplomskog rada te na brojnim savjetima prilikom pisanja diplomskog rada, i što je uvijek imala strpljenja i vremena za moje brojne upite.*

*Također, zahvaljujem se dr. sc. Željki Car na uloženom trudu i strpljenju tijekom izrade eksperimentalnog dijela rada te na pomoći prilikom pisanja rada.*

*Velika hvala svim djelatnicima Zavoda za organsku kemiju i kolegama u laboratoriju na pruženoj pomoći i ugodnoj radnoj atmosferi.*

*Hvala svim prijateljima i kolegama koji su bili uz mene i uljepšali mi dane studiranja.*

*I na kraju, posebno hvala mojoj obitelji i najbližima koji su uvijek bili uz mene i bez kojih sve ovo što sam dosad postigla ne bi bilo moguće.*

*Velika HVALA svima!*

*Zagreb, prosinac 2016.*

*Ivana Fržić*

## SADRŽAJ

### TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

### BASIC DOCUMENTATION CARD

SAŽETAK.....	V
ABSTRACT .....	VI
1. UVOD .....	1
1.1. CILJ I SVRHA RADA .....	2
2. LITERATURNI PREGLED.....	4
2.1. Hidroksipiridinoni .....	4
2.1.1. Struktura, svojstva i podjela hidroksipiridinona.....	4
2.1.2. Priprava 3-hidroksipiridin-4-ona .....	6
2.1.2.1. Harrisova metoda.....	6
2.1.2.2. Izravna metoda .....	9
2.1.3. Biološka aktivnost derivata 3-hidroksipiridin-4-ona.....	10
2.1.3.1. Kelatirajući učinak 3,4-HP .....	10
2.1.3.2. Alzheimerova i Parkinsonova bolest .....	13
2.1.4. Lipofilnost i biodostupnost lijekova .....	14
2.2. Metode pripreve etera.....	16
2.2.1. Priprava etera dehidratiranjem alkohola u kiselim reakcijskim uvjetima .....	17
2.2.2. Williamsonova sinteza etera.....	18
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	20
3.1. Materijali i metode .....	20
3.2. Priprava <i>para</i> supstituiranih derivata <i>N</i> -aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (1-4).....	21
3.2.1. Općeniti postupak pripreve spojeva 1-4 .....	21
3.2.1.1. Priprava 3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-ona (1).....	21
3.2.1.2. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-( <i>p</i> -metilfenil)piridin-4-ona (2) .....	22
3.2.1.3. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-( <i>p</i> -metoksilfenil)piridin-4-ona (3) .....	23
3.2.1.4. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-( <i>p</i> -nitrofenil)piridin-4-ona (4) .....	23
3.2. Priprava estera bromoctene kiseline (5 i 6) .....	24
3.2.1. Priprava (adamantan-1-il)-bromacetata (5) .....	24
3.2.1. Priprava cikloheksil-bromacetata (6).....	25
3.3. Priprava adamantilnih piridinonskih etera 7-10 Williamsonovom sintezom etera.....	26
3.3.1. Općeniti postupak pripreve etera 7-10.....	26
3.3.1.1. Priprava (adamantan-1-il)-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetata (7) .....	26

3.3.1.2. Priprava (adamantan-1-il)-2-[2-metil-( <i>p</i> -metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (8)	27
3.3.1.3. Priprava (adamantan-1-il)-2-[2-metil-1-( <i>p</i> -metoksilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (9)	28
3.3.1.4. Priprava (adamantan-1-il)-2-[2-metil-1-( <i>p</i> -nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (10)	29
3.4. Priprava cikloheksilnih piridinonskih etera 11-14 Williamsonovom sintezom etera	30
3.4.1. Općeniti postupak priprave etera 11-14	30
3.4.1.1. Priprava cikloheksil-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetata (11)	31
3.4.1.2. Priprava cikloheksil-2-[2-metil-( <i>p</i> -metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (12)	32
3.4.1.3. Priprava cikloheksil-2-[2-metil-1-( <i>p</i> -metoksilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (13)	33
3.4.1.4. Priprava cikloheksil-2-[2-metil-1-( <i>p</i> -nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (14)	34
3.5. Priprava etera 15 i 16 redukcijom etera 10 i 14	35
3.5.1. Općeniti postupak priprave etera 15 i 16	35
3.5.1.1. Priprava (adamantan-1-il)-2-[1-( <i>p</i> -aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (15)	35
3.5.1.2. Priprava cikloheksil-2-[1-( <i>p</i> -aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (16)	36
4. REZULTATI I RASPRAVA	38
4.1. UVOD	38
4.2. Priprava <i>para</i> supstituiranih <i>N</i> -aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (1-4)	39
4.3. Priprava adamantilnih i cikloheksilnih estera bromoctene kiseline (5-6)	41
4.4. Priprava lipofilnih adamantilnih eterskih derivata piridinona (7-10)	44
4.5. Priprava lipofilnih cikloheksilnih eterskih derivata piridinona (11-14)	45
4.6. Priprava lipofilnih adamantilnih i cikloheksilnih eterskih derivata 15 i 16 redukcijom spojeva 10 i 14	47
5. ZAKLJUČAK	48
6. LITERATurna VRELA	50
7. PRILOZI	VII
7.1. POPIS OZNAKA KRATICA I SIMBOLA	VII
7.2. ŽIVOTOPIS	IX

## SAŽETAK

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Kemijski odsjek

Diplomski rad

### **PRIPRAVA LIPOFILNIH ETERSKIH DERIVATA 3-HIDROKSIPIRIDIN-4-ONA I ALKIL-BROMACETATA**

**IVANA FRŽIĆ**

Zavod za organsku kemiju, Kemijski odsjek,  
Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu,  
Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Hrvatska

U ovome diplomskom radu opisana je sinteza lipofilnih adamantilnih i cikloheksilnih derivata *para*-supstituiranih *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (**1-4**). Adamantilni i cikloheksilni lipofilni eteri pripremljeni su Williamsonovom sintezom iz polaznih piridinona **1-4** pri čemu je za uvođenje adamantilne jedinice korišten (adamantan-1-il)-bromacetat (**5**), a cikloheksilne cikloheksil-bromacetat (**6**). Iz spoja **1**, 1-fenil-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona, pripremljeni su adamantilni derivat **7** i cikloheksilni derivat **11**. Spoj **2**, 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-on, korišten je za pripremu adamantilnog derivata **8** i cikloheksilnog derivata **12**. Adamantilni derivat **9** i cikloheksilni derivat **13** pripremljeni su iz polaznog piridinona **3**, 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-ona. Spoj **4**, 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on, korišten je kao polazni spoj za pripremu adamantilnog derivata **10** i cikloheksilnog derivata **14**. Redukcijom nitro-derivata **10** i **14** pripremljeni su odgovarajući amino-eteri **15** i **16**.

Strukture svih pripremljenih spojeva potvrđene su spektroskopijom NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) i spektrometrijom masa (MS).

(51 + IX stranica, 23 slika, 20 shema, 29 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Hrvatska.

Ključne riječi: adamantil, cikloheksil, kelatori željeza, lipofilnost, *p*-supstituirani derivati *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona, Williamsonova sinteza etera

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković

Ocjenjivači: Izv. prof. dr. sc. Vesna Petrović Peroković  
Izv. prof. dr. sc. Sanda Rončević  
Izv. prof. dr. sc. Željka Soldin

Zamjena: Prof. dr. sc. Srđanka Tomić-Pisarović

Rad je prihvaćen: 30. studenog 2016.

## ABSTRACT

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Chemistry

Diploma thesis

## SYNTHESIS OF LIPOPHILIC ETHER DERIVATIVES OF 3-HYDROXYPYRIDIN-4-ONES AND ALKYL BROMOACETATES

IVANA FRŽIĆ

Division of Organic Chemistry,  
Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zagreb,  
Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Croatia

In this diploma thesis the synthesis of lipophilic adamantyl and cyclohexyl derivatives of *para* substituted *N*-aryl 3-hydroxy-2-methylpyridin-4-ones (**1-4**) is described. Adamantyl and cyclohexyl lipophilic ethers were prepared from starting pyridinones by Williamson synthesis. Adamantan-1-yl bromoacetate (**5**) and cyclohexyl bromoacetate (**6**) were used for introduction of adamantyl and cyclohexyl unit, respectively. Compound **1**, 3-hydroxy-2-methyl-1-phenylpyridin-4-one was used as a starting compound in the preparation of adamantyl ether derivative **7** and cyclohexyl ether derivative **11**. Compound **2**, 3-hydroxy-2-methyl-1-(*p*-methylphenyl)pyridin-4-one, was used in the synthesis of adamantyl ether derivative **8** and cyclohexyl ether derivative **12**. 3-Hydroxy-2-methyl-1-(*p*-methoxyphenyl)pyridin-4-one **3** served as a starting compound in the preparation of adamantyl ether derivative **9** and cyclohexyl ether derivative **13**. Compound **4**, 3-hydroxy-2-methyl-1-(*p*-nitrophenyl)pyridin-4-one, was used as a starting compound in the preparation of adamantyl ether derivative **10** and cyclohexyl ether derivative **14**. Reduction of nitro groups of derivatives **10** and **14** resulted in formation of amino ethers **15** and **16**, respectively.

The structures of all compounds were confirmed by NMR spectroscopy ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) and mass spectrometry (MS).

(51 + IX pages, 23 pictures, 20 schemes, 29 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Department of Chemistry, Faculty of Zagreb, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Croatia.

Key words: adamantyl, cyclohexyl, iron chelators, lipophilicity, *p*-substituted *N*-aryl 3-hydroxy-2-methylpyridin-4-ones, Williamson ether synthesis

Mentor: Dr. Vesna Petrović Peroković, Assoc. Prof.

Reviewers: Dr. Vesna Petrović Peroković, Assoc. Prof.  
Dr. Sanda Rončević, Assoc. Prof.  
Dr. Željka Soldin, Assoc. Prof.

Replacement: Dr. Srđanka Tomić-Pisarović, Assoc. Prof.

Thesis accepted: 30<sup>th</sup> November, 2016



## **1. UVOD**

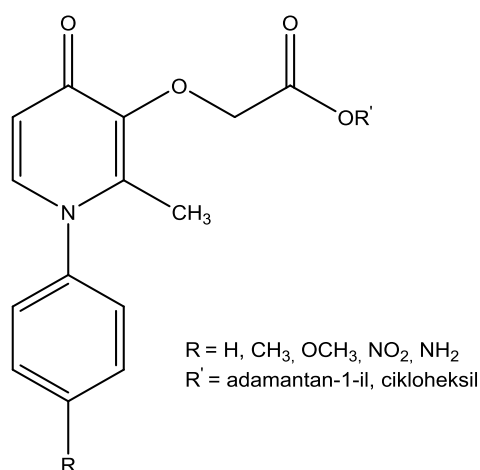
## 1. UVOD

Hidroksipiridinoni (HP) su heterociklički aromatski spojevi, derivati piridina, s hidroksilnom i keto-skupinom vezanima na piridinski prsten. S obzirom na položaj ovih funkcijskih skupina u odnosu na dušikov atom u prstenu razlikujemo tri skupine hidroksipiridinona: 3-hidroksipiridin-4-one (3,4-HP), 1-hidroksipiridin-2-one (1,2-HP) i 3-hidroksipiridin-2-one (3,2-HP).<sup>1,2</sup> Hidroksilna i keto-skupina kod svih su skupina HP međusobno u *orto* položaju te su zaslužne za njihova kelatirajuća svojstva prema dvovalentnim i trovalentnim metalnim ionima. U tom se smislu derivati HP prvenstveno istražuju kao agensi za uklanjanje metalnih iona koji se prekomjerno nakupljaju u organizmu. Osim kao potencijalni kelatoterapeutici, spojevi iz ove skupine pokazuju i niz drugih bioloških učinaka koji se često zasnivaju na kelatiranju, primjerice antibakterijski, antitumorski, antimalarijski učinak, djeluju kao antidementici što se povezuje i s njihovim antioksidativnim djelovanjem itd.<sup>3</sup> Od svih derivata HP najučinkovitiji kelatori trovalentnih, tzv. *tvrdih* metalnih iona, poput  $\text{Fe}^{3+}$  i  $\text{Al}^{3+}$ , u području fiziološkog pH su spojevi iz skupine 3,4-HP koji su u sklopu ovog diplomskog rada poslužili kao polazne supstance za daljnje strukturne modifikacije. Strukturne modifikacije potencijalno biološki aktivnih spojeva općenito se provode s ciljem moduliranja specifičnih fizikalno-kemijskih i farmakoloških svojstava, poput netoksičnosti, biodostupnosti, mogućnosti oralne primjene i drugih. Posebna se pažnja posvećuje lipofilnosti odnosno lipo-hidrofilnom karakteru potencijalnih supstanci jer se na temelju toga može procijeniti efikasnost prolaska kroz biološke membrane kao i mogući putevi uklanjanja iz organizma.<sup>4</sup> Stoga će strukturne modifikacije odabranih derivata 3,4-HP u sklopu ovog diplomskog rada biti usmjerene na pripravu njihovih lipofilnijih analoga koji će poslužiti za biološka ispitivanja.

## 1.1.CILJ I SVRHA RADA

Svrha ovoga rada jest priprava lipofilnih adamantilnih (**7-10, 15**) i cikloheksilnih (**11-14, 16**) eterskih derivata odabranih *N*-aril supstituiranih 3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (**1-4**, Slika 1) s konačnim ciljem ispitivanja njihovog *in vitro* antitumorskog djelovanja.

U dosadašnjim istraživanjima provedenim na Zavodu za organsku kemiju kao lipofilna podjedinica koja se vezala na osnovne 3,4-HP derivate korištena je adamantan-1-iloctena kiselina pri čemu su u reakciji s hidroksilnom skupinom na položaju 3 piridinona nastali esterski derivati.<sup>5</sup> Pripravljenim je spojevima ispitano *in vitro* antitumorsko djelovanje te se pokazalo da se učinak povećava vezanjem lipofilne adamantilne podjedinice. U ovom diplomskom radu, uz adamantilnu, koristit će se i cikloheksilna podjedinica. Za njihovo uvođenje u piridinonsku strukturu poslužit će odgovarajući esteri bromoctene kiseline, (adamantan-1-il)-bromacetat (**5**) i cikloheksil-bromacetat (**6**). Za razliku od dosadašnjeg esterskog načina vezanja adamantilne podjedinice, spojevi **5** i **6** će se na hidroksilnu skupinu na položaju 3 osnovnih piridinona **1-4** vezati eterskom vezom. Kao polazni piridinoni odabrana su četiri *N*-aril supstituirana 3,4-HP derivata kod kojih je arilni dio molekule fenil ili *para* supstituirani fenil (*p*-metilfenil, *p*-metoksifenil, *p*-nitrofenil) kojima je u ranijim istraživanjima potvrđen *in vitro* antiproliferativni učinak.



Slika 1: Općenita strukturna formula ciljnih molekula – adamantilnih i cikloheksilnih derivata 3,4-HP

Nakon ispitivanja antitumorskog djelovanja pripravljenih spojeva, što je konačni cilj ovoga rada, moći će se nešto više reći o utjecaju vrste veze (esterska ili eterska) kojom su piridinonski alkoholi vezani na lipofilnu molekulu, na biološki odgovor. Osim toga, uvođenje

cikloheksilne lipofilne podjedinice ima za cilj ustanoviti je li adamantan zaista strukturni motiv ključan za efikasan antiproliferativni učinak.

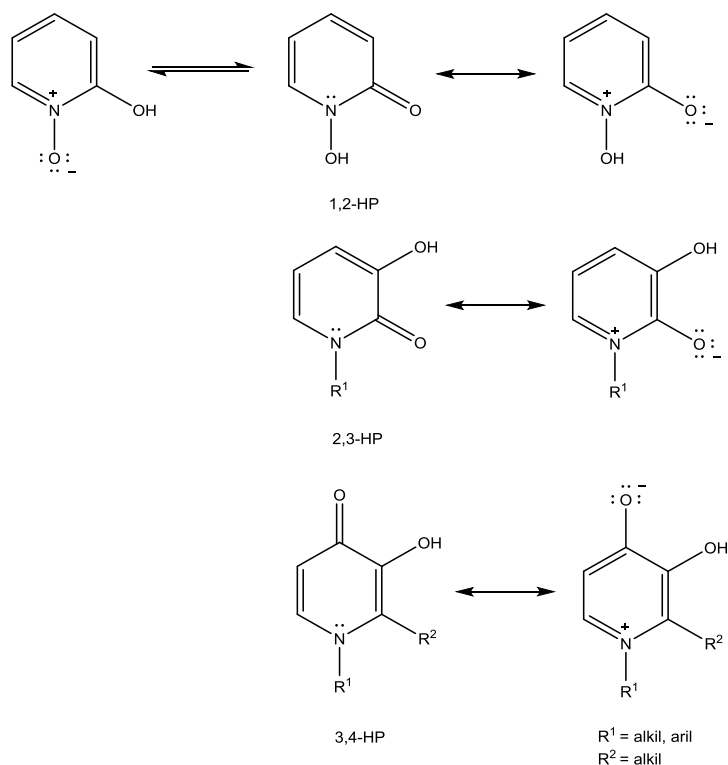
## **2. LITERATURNI PREGLED**

## 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Hidroksipiridinoni

#### 2.1.1. Struktura, svojstva i podjela hidroksipiridinona

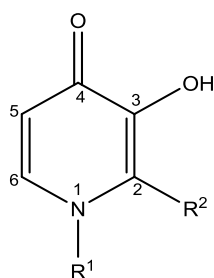
Hidroksipiridinoni (HP) su skupina aromatskih heterocikličkih spojeva s dušikovim atomom u prstenu te hidroksilnom skupinom i keto-skupinom vezanima na prsten. S obzirom na položaj ovih dviju skupina u odnosu na dušikov atom u prstenu, hidroksipiridinone dijelimo na 1-hidroksipiridin-2-one (1,2-HP), 3-hidroksipiridin-2-one (3,2-HP) i 3-hidroksipiridin-4-one (3,4-HP) (Shema 1).<sup>1, 2, 6</sup>



Shema 1. Tautomerni i rezonantni oblici 1,2-HP, 3,2-HP i 3,4-HP

Tautomerna ravnoteža postoji samo kod 1,2-HP pri čemu oba tautomera deprotoniranjem daju isti anion (Shema 1). Pri fiziološkom pH 1,2-HP negativno su nabijeni dok su 3,2-HP i 3,4-HP neutralni.<sup>7</sup>

Najproučavanija skupina hidroksipiridinona su 3,4-HP kod kojih su hidroksilna skupina i keto-skupina međusobno u *orto* položaju i vezane na položaje 3 i 4 prstena. Dušikov atom u prstenu može biti supstituiran alkilnim ili arilnim supstytutentima (Slika 2).<sup>3</sup>



R<sup>1</sup>= alkil, aril  
R<sup>2</sup>= alkil

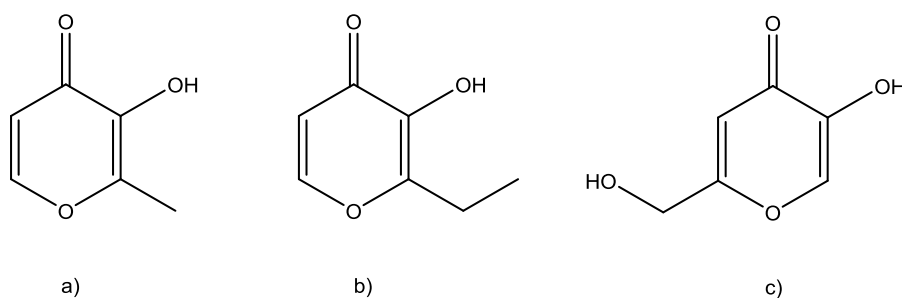
Slika 2: Općenita strukturna formula 3-hidroksipiridin-4-ona (3,4-HP)

3-hidroksipiridin-4-oni posjeduju visok kapacitet kompleksiranja metalnih kationa, osobito željeza. Taj učinak im se pripisuje zbog rasporeda (*O,O*)-kelatirajućih skupina oko središnjeg piridinskog prstena što, u odnosu na ostale HP, uzrokuje najveću bazičnost hidroksilne skupine ( $pK_a$  9 – 9,5) i najveću elektronsku gustoću na donorskim atomima. To ih čini neutralnim pri fiziološkom pH te s većim afinitetom za tzv. *tvrde* metalne ione kao što su  $Fe^{3+}$  i  $Al^{3+}$  u usporedbi s 1,2-HP i 3,2-HP.

Hidroksipiridinoni pokazuju široki spektar bioloških aktivnosti, kao što su antigljivična, antimalarijska, antibakterijska, protuupalna aktivnost itd. Piridinonski prsten se relativno lako kemijski modificira u svrhu sinteze novih spojeva s poboljšanim fizikalno-kemijskim svojstvima i biološkim učinkom. Iako je većina bioloških aktivnosti 3,4-HP rezultat vezanja različitih skupina na položaj N-1, tu je i veliki broj spojeva sa supstituentima na položaju C-2 i C-3 dok su modifikacije položaja C-5 i C-6 rjeđe.<sup>4</sup> Varijacija supstituenata na ovim položajima može snažno utjecati na njihovu biološku aktivnost. Primjerice, nekoliko 3,4-HP glikoliziranih na položaju 3 pokazali su veliki potencijal za liječenje Alzheimerove bolesti.<sup>8</sup> Što se kelirajućeg učinka tiče, ovi ligandi imaju najveći afinitet za metalne ione u fiziološkim uvjetima u kojima su vrlo stabilni, netoksični pa čak i otporni na enzimsku aktivnost. Vezanjem supstituenta na neki od položaja odgovornih za kelirajući učinak 3,4-HP, u prvom redu na hidroksilnu skupinu, a u svrhu povećanja njihove topljivosti i poboljšanja farmakokinetičkih svojstava, može se privremeno maskirati vezno mjesto za metal i učiniti ove spojeve korisnim i učinkovitim prolijekovima.<sup>9</sup>

### 2.1.2. Priprava 3-hidroksipiridin-4-ona

3,4-HP se pripravlja reakcijom analognih 3-hidroksipiran-4-ona s amonijakom ili primarnim alkil- ili aril-aminima, uključujući i aminokiseline. Najčešće korišteni 3-hidroksipiran-4-oni su: 3-hidroksi-2-metilpiran-4-on (maltol), 2-etil-3-hidroksipiran-4-on (etil-maltol) i 5-hidroksi-2-hidroksimetilpiran-4-on (kojična kiselina) (Slika 3).<sup>2</sup> Jedan od njih, maltol, korišten je u ovom radu za pripravu svih polaznih 3,4-HP.



Slika 3. Strukturne formule: a) maltola, b) etil-maltola i c) kojične kiseline

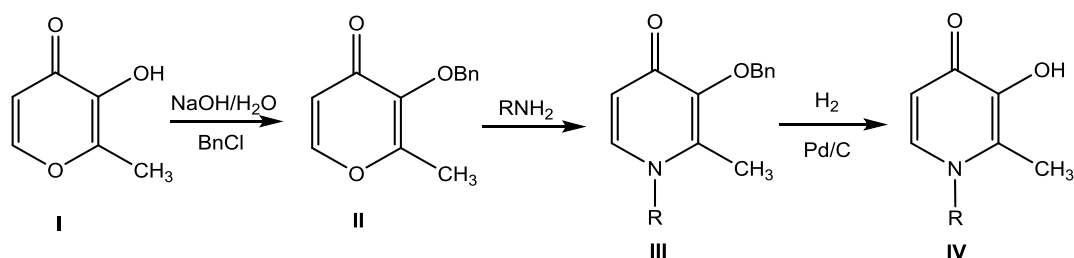
Glavne značajke literaturno opisanih postupaka za pripravu 3,4-HP su umjereni do niski prinosi, produljeno vrijeme reakcije, te često složena izolacija produkta iz reakcijske smjese. Svako poboljšanje postupka njihove sinteze u bilo kojem od spomenutih aspekata doprinos je istraživanjima čiji je cilj priprava novih, biološki učinkovitijih derivata.<sup>10</sup>

Iz literature su poznata dva načina priprave 3,4-HP, a to su Harrisova metoda i izravna metoda.

#### 2.1.2.1. Harrisova metoda

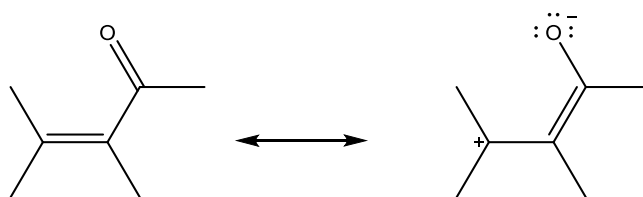
Harrisova metoda<sup>11</sup> je općeprihvaćena metoda za sintezu *N*-supstituiranih derivata 3-hidroksipiridin-4-ona i sastoji se od nekoliko koraka. Prvi korak u sintezi je benziliranje hidroksilne skupine komercijalno dostupnog piran-4-ona **I** (maltola) kako bi se dobio benzilom zaštićeni piran-4-on **II** (benzil-maltol). Drugi korak sinteze je reakcija benzil-maltola **II** s primarnim aminom pri čemu nastaje benzilirani *N*-supstituirani piridin-4-on **III**. Uklanjanjem benzilne zaštitne skupine katalitičkom hidrogenolizom dobiva se ogovarajući *N*-supstituirani 3-hidroksipiridin-4-on **IV** (Shema 2).<sup>12</sup>





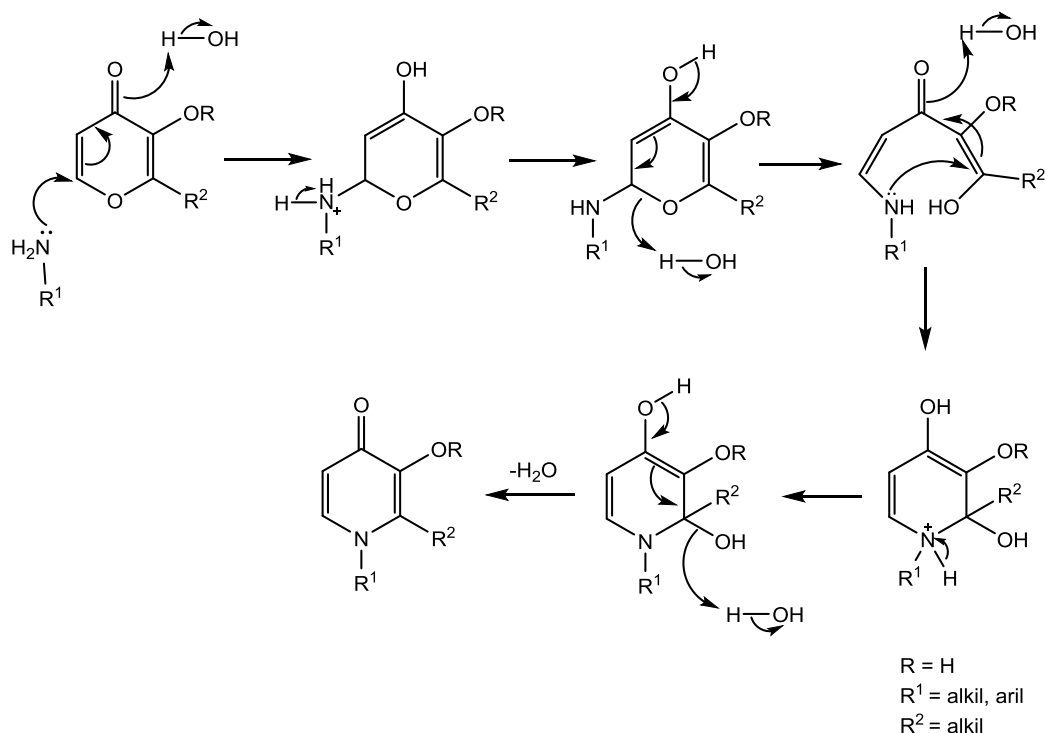
Shema 2. Sinteza 3,4-HP Harrisovom metodom priprave iz maltola i primarnog amina

Mehanizam priprave 3,4-HP pripada vrsti Michaelove adicije u kojoj je Michaelov donor primarni amin, a Michaelov akceptor  $\alpha,\beta$ -nezasićeni sustav piran-4-ona.<sup>12</sup> Kod  $\alpha,\beta$ -nezasićenih karbonilnih spojeva  $\beta$ -ugljikov atom je elektrofilan i prema tome podložan nukleofilnom napadu (Shema 3).<sup>12</sup>



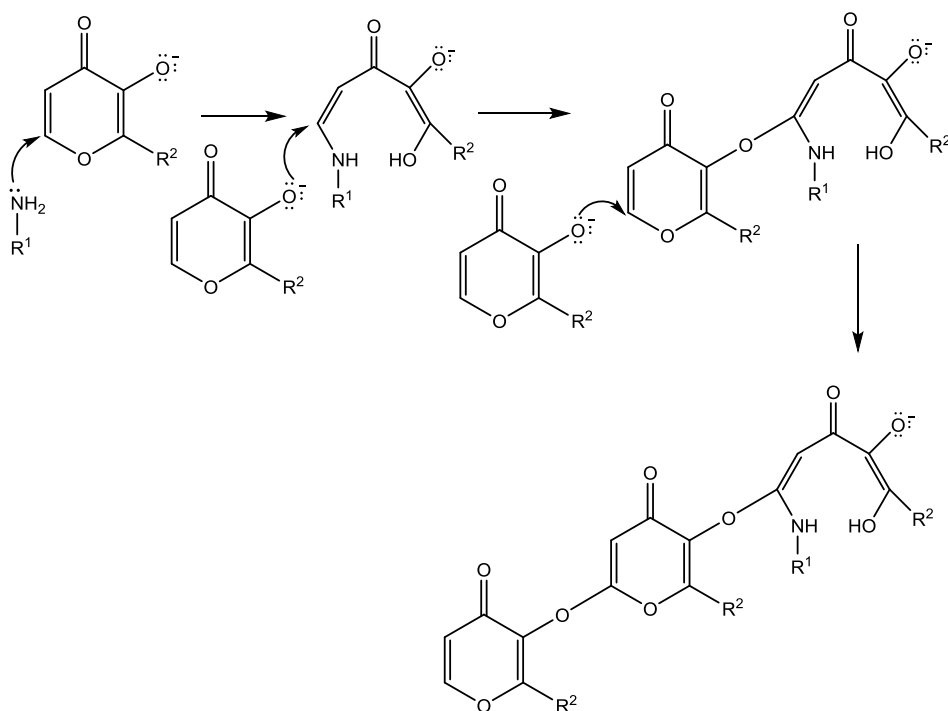
Shema 3. Rezonantne strukture  $\alpha,\beta$ -nezasićenog karbonilnog spoja

Dvije  $\alpha,\beta$ -nezasićene karbonilne skupine 3-hidroksipiran-4-ona daju mogućnost adicije na položajima C-2 i C-6. Kada je nukleofil primarni amin, dvostruki napad nukleofilne amino-skupine na obje  $\alpha,\beta$ -nezasićene veze 3-hidroksipiran-4-ona dovodi do nastanka 3-hidroksipiridin-4-ona uz gubitak molekule vode (Shema 4).<sup>12</sup>



Shema 4. Mehanizam sinteze 3,4-HP Michaelovom adicijom iz piran-4-ona i primarnog amina

U prisutnosti baze nezaštićena hidroksilna skupina na položaju 3 piran-4-ona podložna je deprotoniranju i može reagirati Michaelovom reakcijom s međuproduktima koji nastaju tijekom aminacijskog koraka što rezultira formiranjem nusprodukata (Shema 5).<sup>12</sup> Nastajanje kondenzacijskih nusprodukata dovodi do potrošnje polaznog materijala i tako smanjuje ukupni prinos. Općenito, što je amin voluminozniji, prinos je manji.<sup>13</sup> Zbog toga je kod sterički ometanih amina potrebno zaštititi hidroksilnu skupinu na položaju 3 piran-4-ona te je spriječiti da interferira kao nukleofil u reakciji. Osim zaštićivanjem hidroksilne skupine piranona, što se koristi u Harrisovoj metodi pripreve, sporednu reakciju moguće je izbjeći i korištenjem kiselih katalizatora, poput *para*-toluensulfonske kiseline (*p*-TsOH) ili klorovodične kiseline (HCl).<sup>10</sup>



Shema 5. Mogući sporedni kondenzacijski produkti u sintezi 3,4-HP

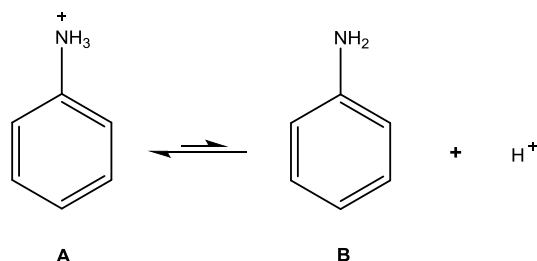
Kada se upotrebljavaju sterički manje ometani amini te arilamini, nije potrebna zaštita hidroksilne skupine piran-4-ona.<sup>6, 12</sup>

#### 2.1.2.2. Izravna metoda

Izravna metoda<sup>14</sup> priprave *N*-aril supstituiranih derivata 3,4-HP ne zahtijeva zaštitu hidroksilne skupine i odvija se u jednom koraku. Može se provesti zagrijavanjem vodene otopine odgovarajućeg hidroksipiranona i primarnog amina uz refluks u trajanju od 3-7 dana<sup>1, 12</sup> ili nešto kraćim zagrijavanjem (2 dana) vodene otopine reaktanata u hermetički zatvorenoj staklenoj cijevi na 150 °C (autoklav).<sup>2</sup> Priprava derivata 3,4-HP najčešće se provodi u autoklavu sa ili bez dodatka kiselog katalizatora. Upotrebom kiselog katalizatora ubrzava se reakcija i nastaje 3,4-HP u većem prinosu u odnosu na nekataliziranu reakciju. Najčešće korišteni kiseli katalizatori su *p*-TsOH i HCl.<sup>10</sup>

U kiselim uvjetima mala je vjerojatnost da će nezaštićena hidroksilna skupina moći reagirati Michaelovim tipom reakcije s međuproduktima koji nastaju tijekom aminacijskog koraka. U takvim uvjetima arilamini, za razliku od alkilamina, nisu u potpunosti protonirani (oblik **A**) te postoji mala količina neprotoniranog amina (oblik **B**) (Shema 6).<sup>12</sup> Dušikov atom

neprotoniranog arilamina (oblik **B**) dovoljno je nukleofilan za napad na C-2 ili C-6 položaj piran-4-ona.<sup>12</sup>



Shema 6. Ravnoteža između protoniranog (**A**) i neprotoniranog (**B**) oblika arilamina

Izravna metoda pripreve *N*-aril supstituiranih 3-hidroksipiridin-4-ona rezultira sličnim prinosom produkta kao i Harrisova metoda. Obzirom da se radi o jednostavnijem postupku koji se provodi u jednom koraku, u ovome je radu korištena izravna metoda pripreve 3,4-HP.

### 2.1.3. Biološka aktivnost derivata 3-hidroksipiridin-4-ona

Hidroksipiridinoni pripadaju skupini *N*-heterocikličkih spojeva koji se često koriste kao *O,O*-kelatirajući ligandi zbog svoga velikog afiniteta prema dvovalentnim i trovalentnim metalnim ionima i stabilnosti nastalih kompleksa. Od svih skupina HP kao važni heterociklički didentatni ligandi za tzv. *tvrde* metalne ione poput  $\text{Fe}^{3+}$  i  $\text{Al}^{3+}$  najviše se ističu 3,4-HP koji se koriste kao potencijalni lijekovi za liječenje nekih bolesti praćenih nakupljanjem željeza u organizmu kao što su talasemija i hemokromatoza.<sup>15</sup> Osim što se koriste za uklanjanje prekomjernih količina metalnih iona iz organizma, pokazuju i različite vrste bioloških učinaka poput antibakterijskog, antitumorskog, antiproliferativnog, antimalarijskog, antioksidativnog i drugih.<sup>4, 2</sup>

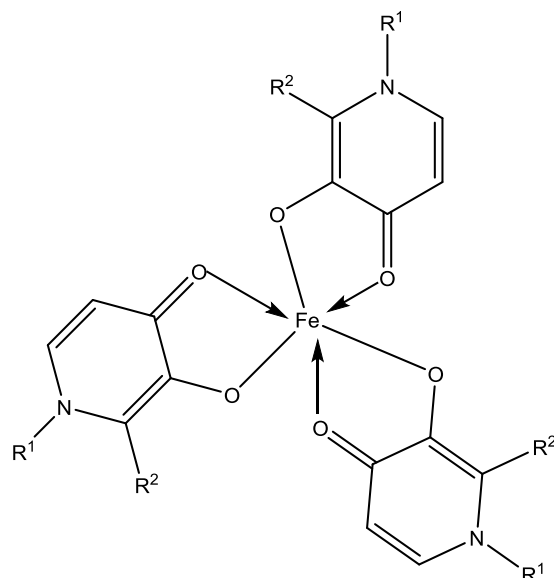
#### 2.1.3.1. Kelatirajući učinak 3,4-HP

Biometali (primjerice Fe, Zn, Cu, Mo) esencijalni su elementi u tragovima koji su bitni za rast i razvoj stanica i organa. Razina metalnih iona u tijelu neprestano se kontrolira homeostatskim mehanizmima i puferima za održavanje optimalne koncentracije slobodnih metalnih iona čime se spriječava njihovo prekomjerno nakupljanje koje ima štetne posljedice. Osim toga, u organizmu se prekomjerno mogu nakupljati i neesencijalni metalni ioni te kompetirati biometalima u vezanju bioliganada, uzrokovati generiranje oksidativnog stresa i poremaćaj enzimskog sustava.<sup>13</sup>

Željezo je esencijalni element za sve žive organizme zbog svojih karakterističnih redoks svojstava i visokog afiniteta za kisik. I višak i nedostatak željeza uzrokuju probleme za žive organizme i stoga se količina željeza u stanicama pažljivo mora kontrolirati. Normalna razina željeza u tijelu iznosi 40 – 50 mg / kg tjelesne mase. Oko 70 % željeza u organizmu nalazi se vezano u metaloproteinima poput hemoglobina u krvi, mioglobina u mišićima koji su specijalizirani za transport i čuvanje kisika ili citokromima koji sudjeluju u sintezi adenozin-trifosfata. Ostatak željeza se nalazi u jetri, slezeni i koštanoj srži gdje se skladišti ili je kofaktor različitih enzima. Jedan od važnijih svakako je i enzim ribonukleotid-reduktaza (RR), posrednik pri pretvorbi sva četiri ribonukleotida u njihove deoksiribonukleotidne analoge, prekursore potrebne za sintezu DNA. Povećana razina željeza izuzetno je toksična zbog željezovog redoks ciklusa (Fentonova reakcija) u kojem se proizvode reaktivne kisikove vrste kao što je hidroksilni radikal. Ovaj radikal može reagirati sa šećerima, lipidima, proteinima i nukleinskim kiselinama te ih oksidirati što može dovesti do oštećenja DNA i RNA.<sup>16</sup> Pošto nema fiziološkog mehanizma eliminacije željeza iz tijela, može doći do njegovog nakupljanja kao u hemosiderozu (uzrokovana parenteralnom primjenom željeza kod liječenja  $\beta$ -talasemije) ili hemokromatozi (genetski nedostatak povezan s viškom apsorpcije željeza). U tom slučaju povišena razina željeza može dovesti do zasićenja proteina transferina i feritina u plazmi i unutar stanice. Transferin je protein koji služi za prijenos iona željeza, a uloga feritina je skladištenje iona željeza u organizmu. To je popraćeno većom razinom nevezanog željeza i njegovim taloženjem u stanicama i organima kao što su jetra, gušterača, srce i mozak što dovodi do oštećenja ili zatajenja tih organa, a u konačnici i smrti.<sup>6</sup> Osim ovih poremećaja višak željeza može dovesti i do neurodegenerativnih poremećaja kao što su Parkinsonova bolest, Alzheimerova bolest ili Friedreichova ataksija.<sup>13</sup>

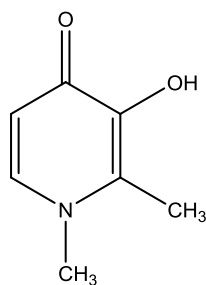
Desferrioksamin (DFO) je prirodna siderofora koja se prva počela koristiti za liječenje prekomjerno nakupljenog željeza, te je trenutačno jedini klinički dostupan lijek koji se koristi u tu svrhu. Osnovni nedostatak DFO je da je neaktivan kada se primjenjuje oralno te ga je potrebno uzimati intravenski tijekom 12-18 h nekoliko puta tjedno, što je vrlo nepraktično i iscrpljujuće za pacijente. Potreba za novim oralno primjenjivim lijekom za keliranje metala je velika, a derivati 3,4-HP trenutno su jedni od glavnih kandidata za razvoj oralno aktivnih kelatora željeza koji bi mogli zamijeniti DFO.<sup>17</sup> Ova skupina liganada visoko je selektivna za  $\text{Fe}^{3+}$  i ima relativno nisku konstantu stvaranja kompleksa s bakarom, cinkom, kalcijem i magnezijem. U fiziološkim uvjetima, gdje je raspon pH 5,0 – 9,9, dominantna kompleksna vrsta u kojoj je omjer liganda i metala 3 : 1 je nenabijena (Slika 4).<sup>2</sup> Pri fiziološkim

vrijednostima pH metalni ion je ugrađen u strukturu peteročlanog prstena, poznatog po termodinamičkoj stabilnosti. Sposobnost 3,4-HP da djeluju kao didentatni ligandi može se objasniti *zwitterionskim* pseudo-aromatskim karakterom heterocikličkog sustava.<sup>2</sup>



Slika 4. Strukturna formula kompleksa 3,4-HP :  $\text{Fe}^{3+} = 3 : 1$

Derivat 3,4-HP koji je u kliničkoj upotrebi jest didentatni 1,2-dimetil-3-hidroksipiridin-4-on (deferipron, Ferriprox®, Slika 5) koji se primjenjuje kod bolesnika oboljelih od talasemije. To je prvi lijek za liječenje viška željeza koji se primjenjuje oralno. Nažalost, doza koja je potrebna da bi se izazvalo dovoljno izlučivanje željeza koristeći deferipron relativno je visoka, u području od 75 do 100 mg / kg / dan.<sup>12</sup> Također, primjećene su i nuspojave kod nekih bolesnika koji su primali deferipron. Glavni nedostatak deferiprona jest brza inaktivacija u fazi II metabolizma koji se odvija u jetri te je pronađeno da se oko 85 % primijenjene doze pretvara u *O*-glukuronid koji je pronađen u urinu.<sup>2</sup>



Slika 5. Strukturna formula 1,2-dimetil-3-hidroksipiridin-4-ona (deferiprona, DFP)

### 2.1.3.2. Alzheimerova i Parkinsonova bolest

Poremećaj homeostatskog mehanizma željeza u mozgu primarni je čimbenik oksidativnog stresa i smrti neurona koji može dovesti do neurodegenerativnih bolesti kao što su Alzheimerova (AD) i Parkinsonova bolest (PD). Te dvije neurološke bolesti karakterizirane su nakupljanjem abnormalnih agregata proteina ( $\beta$ -amiloida  $A\beta$  kod AD i  $\alpha$ -sinukleina kod PD) kao i akumulacijom željeza. Mnoge druge neurodegenerativne bolesti, kao što su Huntingtonova bolest, Friedreichova ataksija (FA) i amiotrofna lateralna skleroza također su povezane s promjenama u metabolizmu željeza i njegovom akumulacijom. Iako je aluminij redoks-neaktivni metalni ion, također je pronađen u visokoj koncentraciji u mozgu kod pacijenta oboljelih od AD.<sup>18</sup>

Alzheimerova bolest je ozbiljni neurodegenerativni poremećaj koji se javlja kod starijih ljudi. Simptomi ove bolesti su demencija, gubitak pamćenja te promjena u ponašanju i osobnosti bolesnika. Autopsija ljudi koji su imali Alzheimerovu bolest pokazuje oštećenja bazalne jezgre koja se nalazi u moždanom deblu i koja proizvodi acetilkolin, tvar koja je potrebna za prijenos impulsa s jedne moždane stanice na drugu. Za pamćenje je vrlo važna dobra komunikacija među stanicama, a ako nema dovoljno tvari koja tu komunikaciju omogućuje, pamćenje je poremećeno. Istraživanja su usmjerena na pronalazak lijeka koji će kelirati višak redoks-aktivnih metalnih iona i ukloniti slobodne radikale koji dovode do oksidativnog stresa. Zbog toga se kelatirajuća skupina za metal u lijekovima kombinira s drugim skupinama kako bi se dobila neurozaštitna uloga kao što je inhibicija enzima acetilkolin-esteraze (AChE), antioksidativno djelovanje i anti- $A\beta$  agregacija.<sup>19</sup> Iako je DFO bio prvi kelator željeza koji se koristio za uklanjanje unutarstaničnog željeza iz mozga, njegov hidrofilni karakter ograničava pristup mozgu pa su predloženi drugi kelatori metala kao terapijska sredstva za AD. Većina lijekova koja je predložena za liječenje AD temeljena je ili na strukturi 8-hidroksikinolina ili na strukturi 3,4-HP.<sup>20</sup> Kelatori na bazi 3,4-HP koriste se za liječenje AD zbog jednostavne strukturne modifikacije koja dovodi do promjene bioraspoloživosti i farmakokinetike. Mijenjanjem supstituenata na različitim položajima piridinonskog prstena pripremaju se novi derivati 3,4-HP koji imaju veći afinitet prema željezu i odgovarajuću lipofilnost. Time se postižu i dodatni terapijski učinci povezani s neurodegenerativnim procesima kao što su poboljšanje antioksidativnih svojstava,  $A\beta$  agregacija i inhibicija važnih enzima uključenih u neurodegenerativne procese kao što je AChE. U fiziološkim uvjetima 3,4-HP imaju veliku selektivnost prema  $Fe^{3+}$  i ostalim tzv. *tvrdim* metalnim ionima te posjeduju nisku molekulsku masu ( $< 500$  Da) i tvore neutralne  $FeL_3$  komplekse. Vezanjem glukoze na hidroksilnu skupinu na položaju 3 piridinonskog

prstena poboljšava se njihova apsorpcija u mozgu. Takvi prolijekovi mogu lakše prijeći krvno-moždanu barijeru, a zatim se cijepanjem glikozidne veze prevesti u aktivno kelirajuće sredstvo.<sup>3</sup>

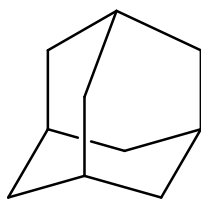
Zbog povećane razine oksidativnog stresa u neurodegenerativnim bolestima počeli su se razvijati antioksidativni lijekovi sa sposobnošću ciljanja reaktivnih kisikovih vrsta (ROS, engl. *Reactive Oxygen Species*).<sup>21</sup> Budući da se redoks-aktivni metalni ioni s godinama nakupljaju u mozgu, te se redoks ciklusom mogu generirati slobodni radikali, i antioksidansi i sredstva za keliranje željeza pokazuju neurozaštitnu ulogu kod AD i PD. Keliranjem željeza HP također mogu djelovati kao antioksidansi i tako smanjiti oksidativni stres. Sposobnost 3,4-HP derivata da uklanjaju slobodne radikale veća je za spojeve koji imaju arilni umjesto alkilnog supstituenta na dušikovom atomu u prstenu. *N*-arilne skupine dodatno stabiliziraju produkte koji nastaju vezanjem radikala i 3,4-HP zbog aromatske konjugacije i elektronske stabilizacije.<sup>22</sup>

#### **2.1.4. Lipofilnost i biodostupnost lijekova**

Kao što je već istaknuto, vezanjem različitih supstituenata na piridinonski prsten može se utjecati na lipofilnost, a time i na bioraspoloživost 3,4-HP. Tako se vezanjem lipofilnih podjedinica na osnovni skelet 3,4-HP olakšava njegov prolaz kroz biološke membrane. Cilj ovog diplomskog rada bio je uvesti dvije takve lipofilne podjedinice, adamantilnu i cikloheksilnu, na *N*-aril supstituirani 3,4-HP i ispitati *in vitro* antitumorski učinak pripremljenih derivata. Adamantilna odnosno cikloheksilna podjedinica uvedene su vezanjem (adamantan-1-il)-bromacetata odnosno cikloheksil-bromacetata na hidroksilnu skupinu derivata 3,4-HP eterskom vezom.

Adamantan je zasićeni triciklički ugljikovodik kemijske formule  $C_{10}H_{16}$  (Slika 6). Sastoji se od tri cikloheksanska prstena u konformaciji sedla i ima strukturu kristalne rešetke dijamanta. Najstabilniji je triciklički ugljikovodik, tali se pri 269 °C, lako sublimira već pri sobnoj temperaturi, ugodna je mirisa po kamforu. Izoliran je iz nafte 1933. u kojoj se nalazi u malim količinama. Prvi su ga sintetizirali 1941. hrvatski kemičari V. Prelog i R. Seiwerth u Zagrebu, gdje je kasnije svojim radovima kemiji adamantana znatno pridonio i Z. Majerski.





Slika 6. Strukturna formula molekule adamantana

Kako ova molekula posjeduje karakterističnu voluminoznost i lipofilnost, adamantanska podjedinica nalazi širok spektar primjene u biološki aktivnim spojevima i u supramolekularnoj kemiji. Brojni derivati adamantana posjeduju antivirusnu aktivnost, a efikasnost pojedinih lijekova znatno se povećava uvođenjem adamantanske jezgre u molekulu. Adamantanska struktura može se ugraditi i u polimere koji su zbog toga otporniji na termičku i oksidativnu razgradnju.<sup>23</sup>

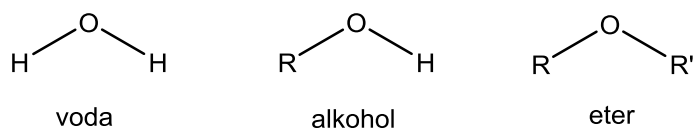
Spojevi bazirani na adamantanu klinički se koriste za liječenje neuroloških stanja, kao antivirusna sredstva i kao sredstva za liječenje dijabetesa tipa 2. Konstanta hidrofobnosti za adamantilnu skupinu procijenjena je izračunavanjem koeficijenta raspodjele ( $\log P$ ) za 31 spoj koji sadrži adamantilnu skupinu i ona iznosi prosječno 3,1.<sup>24</sup> To znači da su spojevi koji na sebi imaju vezanu adamantilnu skupinu lipofilniji od svojih analoga bez adamantana. Membranska topljivost spoja koji je jako topljiv u vodi ( $\log P \ll 0$ ) može se ugradnjom adamantilne skupine u strukturu povećati na vrijednost koja može biti klinički korisna. U strukturi azidotimidina, lijeka za liječenje AIDS-a, adamantanska je podjedinica u obliku adamantan-1-iloctene kiseline vezana esterskom vezom čime je dobiven prolijek s poboljšanim prolaskom kroz krvno-moždanu barijeru.<sup>24</sup> Sterički voluminozna adamantilna skupina može spriječiti pristup hidrolitičkih enzima čime se povećava stabilnost lijeka i vrijeme poluživota u plazmi. Mnogi spojevi bazirani na adamantanu ispitivani su kao potencijalni lijekovi za liječenje bolesti nakupljanja željeza, malarije, upalnih stanja, tuberkuloze, raka i neuroloških bolesti.<sup>24</sup>

Cikloheksan je bezbojna, zapaljiva tekućina molekulske formule  $C_6H_{12}$ . Nalazi se prirodno u nafti i ima miris sličan petroleju. Ima manju gustoću od gustoće vode i netopiv je u vodi. Koristi se kao organsko otapalo za lakove, smole, sintetičke gume, ekstrakciju eteričnih ulja, kao fungicid te u proizvodnji najlona. On je međuprodukt u proizvodnji adipinske kiseline. Poznato je da se cikloheksan podvrgava oksidativnom metabolizmu čime se dobiva cikloheksanol (glavni metabolit), cikloheksanon i eventualno drugi oksidacijski produkti (1,2- ili 1,4-dihidroksicikloheksan i odgovarajući keto-analozi).<sup>25</sup>

Posjeduje lipofilna svojstva te je cikloheksilna podjedinica, uz adamantilnu, korištena u sklopu ovog radu za mijenjanje lipo-hidrofilnog karaktera osnovnih *N*-aril supstituiranih derivata 3,4-HP izvedenih iz maltola i anilina, odnosno odgovarajućih *para* supstituiranih anilina.

## 2.2. Metode priprave etera

Eteri su organski spojevi opće formule  $R-O-R'$  u kojima je kisikov atom povezan s dva ugljikova atoma, a  $R$  i  $R'$  mogu biti alkilne ili arilne skupine. Dva radikala ( $R$ ) u molekuli etera mogu biti istovrsna (jednostavni eteri) ili različita (mješoviti eteri). I alkoholi i eteri strukturno slični vodi s tim da je kod alkohola jedan vodikov atom molekule vode zamijenjen alkilnom / arilnom skupinom dok su kod etera oba vodikova atoma zamijenjena navedenim skupinama (Slika 7). Eteri su uglavnom hlapljive i lako zapaljive tekućine karakteristična mirisa, netopljive u vodi, topljive u alkoholima i drugim organskim otapalima. Iznimka je samo najjednostavniji eter dimetil-eter ( $H_3C-O-CH_3$ ) koji je plin. Najviše se upotrebljavaju u organskoj sintezi kao organska aprotična otapala (primjerice dietil-eter, diizopropil-eter, diizobutil-eter), ali i kao sredstva za ekstrakciju, dezinfekciju te kao omekšivači. Eteri se najčešće pripremaju dehidratiranjem alkohola ili reakcijom alkil-halogenida s alkoholima u lužnatom mediju (Williamsonova sinteza etera).

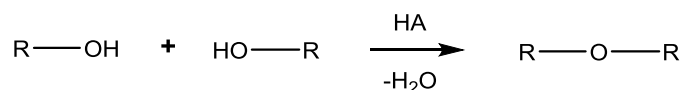


Slika 7. Strukturne formule vode, alkohola i etera

Dietil-eter ili obični eter,  $C_2H_5OC_2H_5$ , komercijalno je najvažniji eter. Dobiva se dehidratiranjem etanola uz pomoć sumporne kiseline. Bezbojna je i lako hlapljiva tekućina karakteristična opojna mirisa, vrije pri  $34,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Lako se zapali, a pare etera teže su od zraka i s njim tvore eksplozivnu smjesu. Dobro otapa masti, smole, voskove, alkalioide i druge organske spojeve, pa se upotrebljava u kemijskoj i farmaceutskoj industriji kao otapalo. No, zbog opasnosti od požara i eksplozija sve se više zamjenjuje drugim otapalima. Dietil-eter se nekad primjenjivao u medicini kao anestetik, ali se zbog štetnih nuspojava više ne koristi.<sup>26</sup>

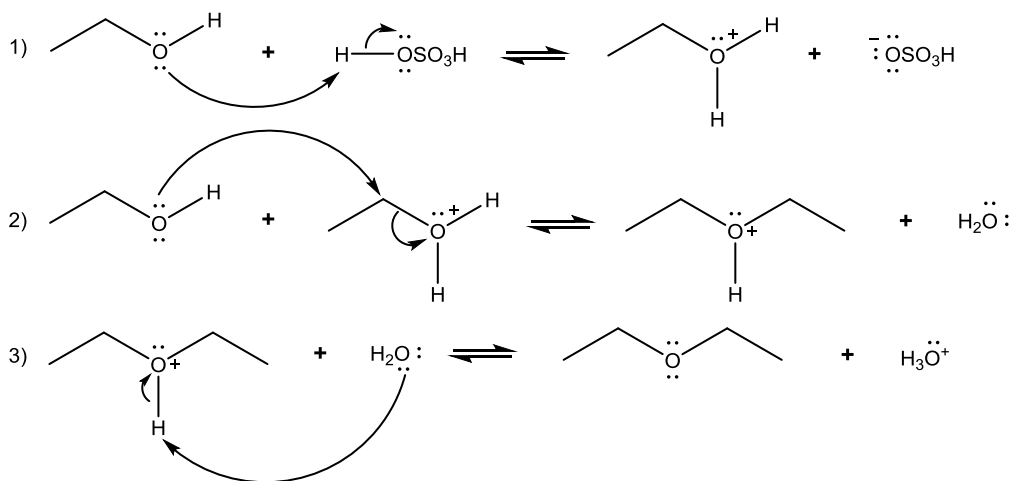
### 2.2.1. Priprava etera dehidratiranjem alkohola u kiselim reakcijskim uvjetima

Primarni alkoholi mogu se dehidratiranjem prevesti u etere (Shema 7). Reakcija se odvija na nižoj temperaturi od konkurentne reakcije dehidratiranja alkohola u alken. Ova metoda priprave obično se ne koristi sa sekundarnim i tercijarnim alkoholima jer je vjerojatnija eliminacija kojom nastaje alken, a ne eter.



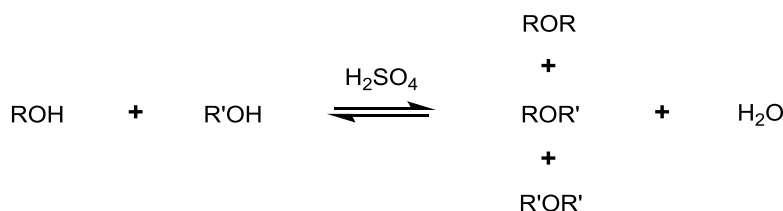
Shema 7. Reakcija dehidratiranja alkohola u kiselim reakcijskim uvjetima

Dehidratiranje alkohola u eter obično se odvija na nižoj temperaturi u odnosu na dehidratiranje u alken i može biti potpomognuto destilacijom etera iz reakcijske smjese. Formiranje etera odvija se  $\text{S}_{\text{N}}2$  mehanizmom s jednom molekulom alkohola koja djeluje kao nukleofil i drugom protoniranom molekulom alkohola koju nukleofil napada. Prvi korak je kiselo-bazna reakcija protoniranja hidroksilne skupine alkohola (Shema 8). U drugom koraku, koji se odvija  $\text{S}_{\text{N}}2$  mehanizmom, druga molekula alkohola ponaša se kao nukleofil i napada protoniranu molekulu alkohola. U trećem koraku odvija se druga kiselo-bazna reakcija kojom se eter deprotonira uz prijenos protona na molekulu vode (ili na drugu molekulu alkohola).



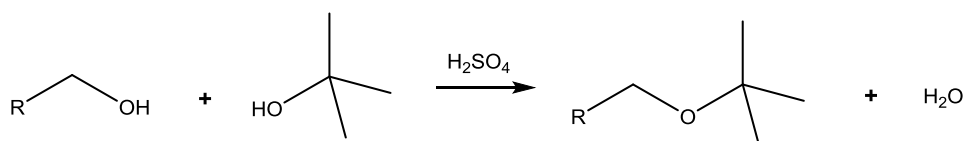
Shema 8. Mehanizam reakcije priprave dietil-etera dehidratiranjem alkohola

Pokušaji da se sintetiziraju eteri dehidratiranjem sekundarnih i tercijarnih alkohola obično su neuspješni jer se vrlo lako formiraju alkeni. Kiselinom katalizirano dehidratiranje nije korisno za pripravu asimetričnih etera iz primarnih alkohola jer nastaju smjese produkata (Shema 9).



Shema 9. Nastajanje smjese produkata u sintezi asimetričnih etera dehidratiranjem

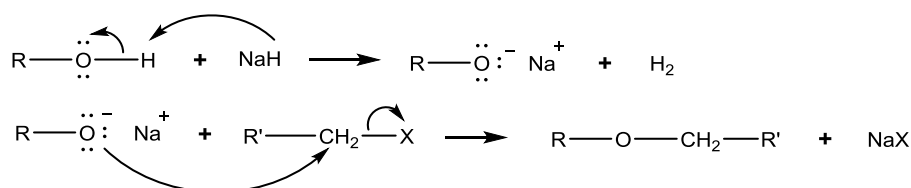
Izuzetak je sinteza asimetričnih etera u kojoj je jedna alkilna skupina *tert*-butilna skupina, a druga skupina je primarna. Sinteza se provodi na sobnoj temperaturi dodavanjem *tert*-butilnog alkohola u smjesu primarnog alkohola i  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Shema 10).<sup>27</sup>



Shema 10. Sinteza asimetričnih etera iz primarnog i tercijarnog alkohola dehidratiranjem

### 2.2.2. Williamsonova sinteza etera

Za sintezu asimetričnih etera koristi se nukleofilna supstitucijska reakcija ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ) poznata kao Williamsonova sinteza etera. Ona uključuje napad alkoksidnog iona – nukleofila na supstrat – halogenalkan pri čemu dolazi do formiranja etera (Shema 11). Tipični supstrati za Williamsonovu sintezu su  $1^\circ$  i  $2^\circ$  halogenalkani, alkil-sulfati i alkil-sulfonati. Alkoksid se obično pripravlja dodavanjem neke baze, primjerice NaH u alkohol.



Shema 11. Mehanizam Williamsonove sinteze etera

Supstrat mora biti primaran (ili metil) s dobrom izlaznom skupinom kako bi se izbjegla eliminacijska (E2) reakcija. Ako je supstrat tercijarni, prednost ima eliminacija (supstitucija ima prednost nad eliminacijom pri nižim temperaturama).<sup>27</sup>

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Materijali i metode

U sintezama su korišteni komercijalno dostupni polazni spojevi, reagensi i otapala: 3-hidroksi-2-metilpiran-4-on (maltol, *Sigma-Aldrich*), fenilamin (anilin, *Sigma-Aldrich*), *p*-metilfenilamin (*p*-toluidin, *Merck*), *p*-metoksifenilamin (*p*-anisidin, *Sigma-Aldrich*), *p*-nitrofenilamin (*Sigma-Aldrich*), adamantan-1-ol (*Sigma-Aldrich*), cikloheksanol (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O, *Kemika*), bromoctena kiselina (*Sigma-Aldrich*), *p*-toluensulfonska kiselina (*p*-TsOH; *Merck*), koncentrirana sumporna kiselina (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *Fluka*), natrijev hidroksid (NaOH, *Fluka*), bezvodni natrijev sulfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *Merck*), bezvodni kalijev karbonat (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, *Kemika*), Pd/C (10 %, *Fluka*), metanol (*Fluka*), diklormetan (DCM, *Lach-Ner*), kloroform (*Lach-Ner*), acetonitril (*Merck*), etil-acetat (*Fluka*), toluen (*Kemika*) i aceton (*Sigma-Aldrich*). Sva korištena otapala su pročišćavana i sušena prema uobičajenim postupcima.<sup>28</sup>

Za pročišćavanje spojeva korištene su kromatografija na stupcu i prekrystalizacija iz odgovarajućeg otapala uz dodatak aktivnog ugljena. Za praćenje tijeka reakcije, kontrolu čistoće spojeva i preliminarnu identifikaciju produkata korištena je tankoslojna kromatografija na pločicama silikagela (60 F 254, 0,25 mm, *Fluka*).

Vizualizacija je provedena apsorpcijom UV zračenja (254 nm), reverzibilnom adicijom joda i/ili karboniziranjem sumpornom kiselinom ili prskanjem ninhidrinom uz naknadno zagrijavanje. Kromatografija na stupcu je rađena na *Merck* silikagelu 60 (0,063-0,200 mm). Za kromatografiju na stupcu i tankoslojnu kromatografiju korištena su sljedeća otapala ili sustavi otapala:

Sustav otapala A: etil-acetat / metanol, 5 : 1

Sustav otapala B: etil-acetat / metanol, 5 : 2

Sustav otapala C: kloroform / acetonitril, 3 : 1

Otapalo D: kloroform

Otapala su uparavana na rotacijskom uparivaču uz sniženi tlak (*Büchi*).

Spektri <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR snimljeni su na spektrometru (*Bruker AV 600*) pri sobnoj temperaturi na 600 MHz i 150 MHz u deuteriranom dimetilsulfoksidu (DMSO-*d*<sub>6</sub>) kao otapalu. Kemijski pomaci izraženi su prema tetrametilsilanu (TMS) kao unutarnjem standardu u ppm vrijednostima.

Maseni spektri su snimani na spektrometru masa *Agilent 6410* uz tehniku ionizacije elektroraspršenjem (ESI).

Tališta su određivana na uređaju *Büchi Melting Point B-540*.

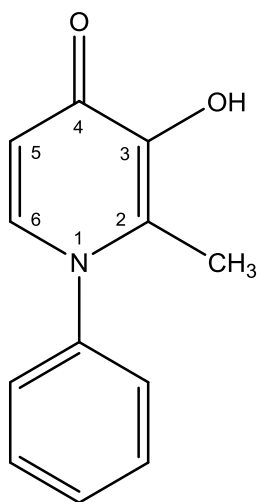
### 3.2. Priprava *para* supstituiranih derivata *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (1-4)

#### 3.2.1. Općeniti postupak pripreve spojeva 1-4

U staklenu cijev doda se maltol (1 g, 7,93 mmol), anilin (724  $\mu$ L, 7,93 mmol) ili odgovarajući *p*-supstituirani derivat anilina: *p*-toluidin (861 mg, 7,93 mmol), *p*-anisidin (986 mg, 7,93 mmol) i *p*-nitroanilin (1,1 g, 7,93 mmol), te *p*-TsOH (152 mg, 0,79 mmol) i voda (20 mL). Staklena cijev se zatvori čepom i prebaci u metalni nosač te grije 48 h na temperaturi od 150 °C. Reakcijska smjesa se zagrije i vruće filtrira preko Büchnerovog lijevka. Hlađenjem matičnice (48 h, 4 °C) dolazi do kristalizacije, a nastali talog se odfiltrira preko Büchnerovog lijevka.

##### 3.2.1.1. Priprava 3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-ona (1)

Iz polaznog maltola i anilina prema postupku opisanom u poglavlju 3.2.1. dobiven je kristalni produkt **1** boje bijele kave (516,1 mg, 32 %) (Slika 8).



Slika 8. Strukturna formula spoja **1**

*t.t.* 221,0 - 221,9 °C, lit.<sup>29</sup> 222 °C.

$R_f$  = 0,47 (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  / ppm: 1.96 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 6.21 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, H-5), 7.43-7.47 (m, 2 H, 2 H-Ar), 7.53-7.57 (m, 3 H, 3 H-Ar), 7.54 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, H-6).

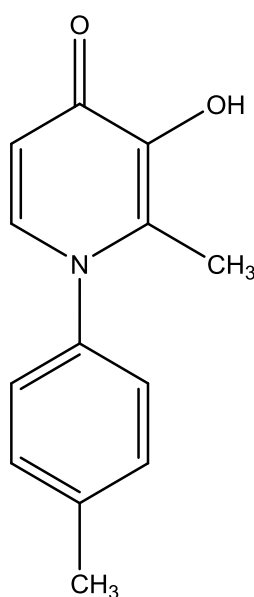


**$^{13}\text{C}$  NMR** (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 13.28 (CH<sub>3</sub>), 110.78 (C-5), 126.93 (2 CH-Ar), 128.52 (C-2), 129.03 (CH-Ar), 129.58 (2 CH-Ar), 137.81 (C-6), 141.56 (C-N), 144.96 (C-3), 169.54 (C=O).

**ESI-MS**  $m/z$  202.2 [M+H]<sup>+</sup>, 224,1 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 3.2.1.2. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-ona (2)

Iz polaznog maltola i *p*-toluidina prema postupku opisanom u poglavlju 3.2.1. dobiven je sivi kristalni produkt **2** (901 mg, 52 %) (Slika 9)



Slika 9. Strukturna formula spoja **2**

*t.t.* 252,5 - 253,9 °C, lit.<sup>29</sup> 253 °C.

$R_f$  = 0,40 (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

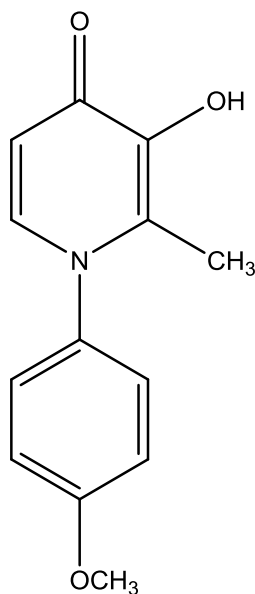
**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1.95 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.39 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-Ar), 6.20 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, H-5), 7.32 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 7.36 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2 H, 2 H-Ar), 7.50 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, H-6).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 13.18 (CH<sub>3</sub>), 20.50 (CH<sub>3</sub>-Ar), 110.65 (C-5), 126.60 (2 CH-Ar), 128.53 (C-2), 129.93 (2 CH-Ar), 137.84 (C-6), 138.60 (Ar-C-CH<sub>3</sub>), 139.11 (C-N), 144.88 (C-3), 169.43 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  216,1 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.2.1.3. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksifenil)piridin-4-ona (**3**)

Iz polaznog maltola i *p*-anisidina prema postupku opisanom u poglavlju 3.2.1. dobiven je smeđi kristalni produkt **3** (245 mg, 13 %) (Slika 10).



Slika 10. Strukturna formula spoja **3**

*t.t.* 245,5 – 247,7 °C; lit.<sup>29</sup> 249 °C.

$R_f$  = 0,41 (etil-acetat : metanol = 5:1).

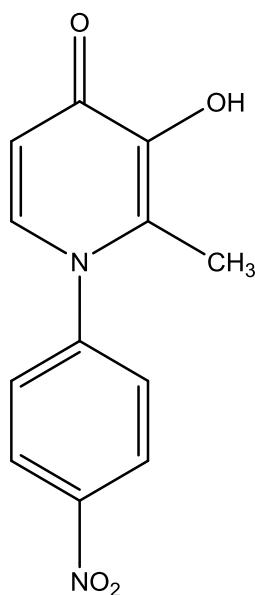
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,95 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 6,19 (d, 1 H,  $J$  = 7,3 Hz, H-5), 7,07 (d, 2 H,  $J$  = 8,8 Hz, 2 H-Ar), 7,36 (d, 2 H,  $J$  = 8,8 Hz, 2 H-Ar), 7,49 (d, 1 H,  $J$  = 7,3 Hz, H-6).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 13,18 (CH<sub>3</sub>), 55,38 (OCH<sub>3</sub>), 110,50 (C-5), 114,48 (2 CH, Ar), 128,00 (2 CH, Ar), 128,79 (C-2), 134,41 (C-N), 138,03 (C-6), 144,79 (C-3), 159,18 (C-OCH<sub>3</sub>), 169,38 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  232,1 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.2.1.4. Priprava 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-ona (**4**)

Iz polaznog maltola i *p*-nitroanilina prema postupku opisanom u poglavlju 3.2.1. uz dodatno ispiranje produkta eterom dobiven je smeđi kristalni produkt **4** (409,3 mg, 21 %) (Slika 11).



Slika 11. Strukturna formula spoja **4**

*t.t.* 217,9 - 218,7 °C.

$R_f$  = 0,37 (etil-acetat : metanol = 5:1).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,93 (s, CH<sub>3</sub>), 6,25 (d, 1H,  $J$ =7,37 Hz, H-5), 7,64 (d, 1H,  $J$ =7,37 Hz, H-6), 7,83-7,88 (m, 1H, H-Ar), 7,98-8,00 (m, 1H, H-Ar), 8,38-8,40 (m, 2H, 2 H-Ar).

$^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 13,31 (CH<sub>3</sub>), 111,16 (C-5), 122,42, 123,43, 130,91, 133,94 (4 CH, Ar), 128,43 (C-2), 137,81 (C-6), 142,08 (C-N), 144,96 (C-3), 148,16 (C-NO<sub>2</sub>), 169,88 (C=O).

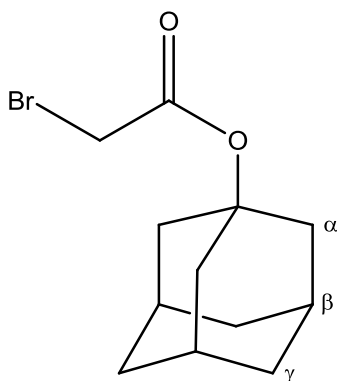
**ESI-MS:**  $m/z$  247,2 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.2. Priprava estera bromoctene kiseline (**5** i **6**)

#### 3.2.1. Priprava (adamantan-1-il)-bromacetata (**5**)

Bromoctena kiselina (640 mg, 4,65 mmol) otopi se u suhom toluenu ( $V$  = 6,39 mL), doda se adamantan-1-ol (1,2 g, 7,9 mmol) i koncentrirana sumporna kiselina ( $V$  = 5  $\mu\text{L}$ ). Reakcijska smjesa se zagrijava uz refluks 24 h uz Dean-Starkov nastavak za uklanjanje vode. Otapalo se upari na rotacijskom uparivaču, a zaostala smjesa se otopi u etil-acetatu ( $V$  = 20 mL) i ekstrahira 3 puta s vodom ( $V$  = 20 mL). Organski ekstrakt se osuši na bezvodnom natrijevom sulfatu. Sredstvo za sušenje se odfiltrira i otapalo upari. Produkt se pročisti kromatografijom na stupcu silikagela uz kloroform : acetonitril = 3 : 1 kao pokretnu fazu. Reakcijska smjesa se

analizira tankoslojnom kromatografijom uz UV detekciju, detekciju jodom te prskanje sumpornom kiselinom uz naknadno zagrijavanje. Dobiven je žuti uljasti produkt (802 mg, 64 %) (Slika 12).



Slika 12. Strukturna formula spoja **5**

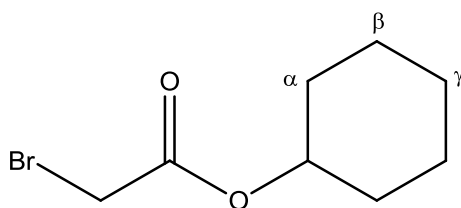
$R_f = 0,74$  (kloroform : acetonitril = 3 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,62 (br s, 6H, H- $\gamma$ ), 2,05 (br s, 6H, H- $\alpha$ ), 2,14 (br s, 3H, H-b), 4,06 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Br).

$^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 28,56 (CH<sub>2</sub>Br), 30,11 (CH- $\beta$ ), 35,38 (CH<sub>2</sub>- $\gamma$ ), 40,48 (CH<sub>2</sub>- $\alpha$ ).

### 3.2.1. Priprava cikloheksil-bromacetata (6)

Bromoctena kiselina (2 g, 14,39 mmol) otopi se u suhom toluenu ( $V = 20$  mL), doda se cikloheksanol (2,64 mL, 24,50 mmol) i koncentrirana sumporna kiselina ( $V = 10$   $\mu\text{L}$ ). Reakcijska smjesa se refluksira 24 h uz Dean-Starkov nastavak za uklanjanje vode. Toluen se upari na rotacijskom uparivaču. Zaostala smjesa se otopi u etil-acetatu ( $V = 20$  mL) i ekstrahira 3 puta s vodom ( $V = 20$  mL). Organski ekstrakt se osuši na bezvodnom natrijevom sulfatu, sredstvo za sušenje se odfiltrira, a otapalo upari. Produkt se pročisti kromatografijom na stupcu silikagela uz čisti kloroform kao pokretnu fazu. Reakcijska smjesa se analizira tankoslojnom kromatografijom uz UV detekciju, detekciju jodom te prskanje sumpornom kiselinom uz naknadno zagrijavanje. Izoliran je produkt **6** u obliku žute uljaste tekućine (2,98 g, 93 %) (Slika 13).



Slika 13. Strukturna formula spoja **6**

$R_f = 0,59$  (kloroform).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,22-1,49 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-cikloheksil), 1,66-1,79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-cikloheksil), 4,16 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Br), 4,70-4,74 (m, 1H, CH).

$^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 22,91 (C- $\beta$ ), 24,68 (C- $\gamma$ ), 27,50 (CH<sub>2</sub>Br), 30,70 (C- $\alpha$ ), 73,70 (C-O), 166,54 (C=O).

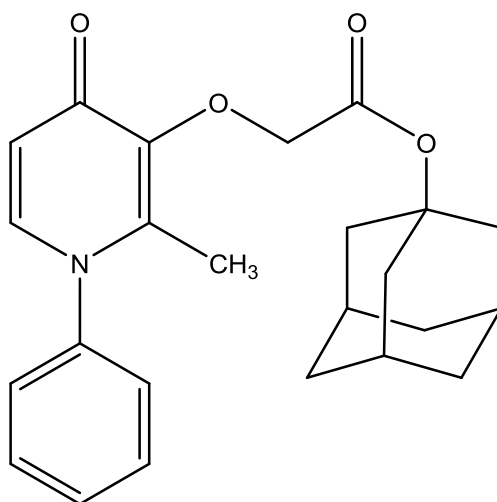
### 3.3. Priprava adamantilnih piridinonskih etera **7-10** Williamsonovom sintezom etera

#### 3.3.1. Općeniti postupak priprave etera **7-10**

Spojevi **1-4** otope se u suhom acetonu u što se doda (adamantan-1-il)-bromacetat (**5**) i bezvodni kalijev karbonat. Reakcijska smjesa se refluksira 24 h. Nakon završetka reakcije aceton se upari, a zaostala smjesa se otopi u diklormetanu ( $V = 20$  mL) i ekstrahira s 5 % natrijevim hidroksidom ( $V = 20$  mL). Organski se ekstrakt osuši na bezvodnom natrijevom sulfatu, sredstvo za sušenje se odfiltrira i otapalo upari. Produkt **7** pročisti se kromatografijom na stupcu silikagela uz etil-acetat : metanol = 5 : 2 kao pokretnu fazu, a produkti **8**, **9** i **10** uz etil-acetat : metanol = 5 : 1 kao pokretnu fazu.

##### 3.3.1.1. Priprava (adamantan-1-il)-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetata (**7**)

Spoju **1** (200 mg, 1 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V = 6$  mL) dodaju se spoj **5** (271,7 mg, 1 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (137,4 mg, 1 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.3.1. Dobiven je svijetlo smeđi kristalni produkt **7** (136,4 mg, 35 %) (Slika 14).



Slika 14. Strukturna formula spoja **7**

*t.t.* 108,5 - 109,7 °C

$R_f$  = 0,65 (etil-acetat : metanol = 5 : 2)

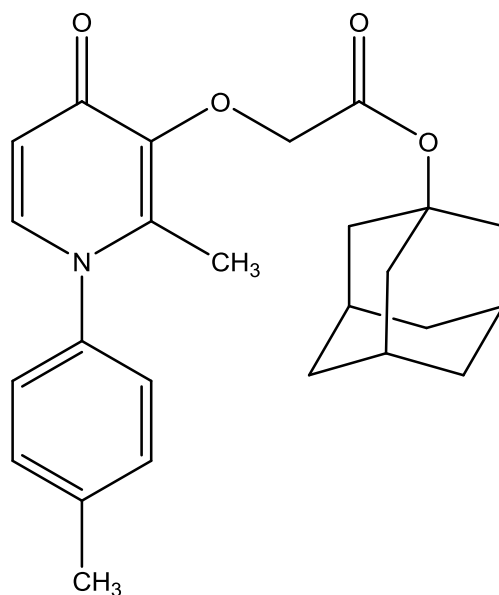
$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,61 (br s, 6H, H- $\gamma$ ), 2,05 (br s, 6H, H- $\alpha$ ), 2,07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,12 (br s, 3H, H $\beta$ -Ad), 4,79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6,21 (d, 1H,  $J$ =7,50 Hz, H-5), 7,43-7,47 (m, 2H, H-Ar), 7,54-7,61 (m, 3H, H-Ar), 7,60 (d, 1H,  $J$ =7,52 Hz, H-6).

$^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 14,25 (CH<sub>3</sub>), 30,09 (C $\beta$ , Ad), 36,01 (C $\gamma$ , Ad), 40,77 (C $\alpha$ , Ad), 66,82 (CH<sub>2</sub>O), 80,60 (C, Ad), 115,78 (C-5), 126,91, 129,18, 129,70 (5 CH, Ph), 139,32 (C-6), 139,69 (C-2), 141,39 (C-N), 144,36 (C-3), 168,28 (C=O, ester), 171,50 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  394,3 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.3.1.2. Priprava (adamantan-1-il)-2-[2-metil-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (**8**)

Spoju **2** (200 mg, 0,93 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V$  = 6 mL) dodaju se spoj **5** (254 mg, 0,93 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (128,5 mg, 0,93 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.3.1. Dobiven je svijetlo smeđi kristalni produkt **9** (170,6 mg, 45 %) (Slika 15).



Slika 15. Strukturna formula spoja **8**

*t.t.* 152,2 - 153,8 °C.

$R_f$  = 0,53 (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

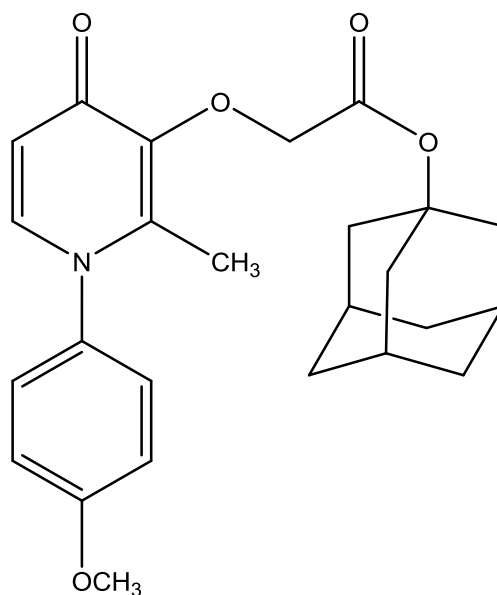
$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,61 (br s, 6H, H- $\gamma$ ), 2,04 (br s, 6H, H- $\alpha$ ), 2,06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,12 (br s, 3H, H $\beta$ -Ad), 2,39 (s, CH<sub>3</sub>-Ph), 4,78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6,22 (d, 1H,  $J$ =7,48 Hz, H-5), 7,30-7,38 (m, 4H, H-Ar), 7,58 (d, 1H,  $J$ =7,49 Hz, H-6).

$^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 14,27 (CH<sub>3</sub>), 20,55 (CH<sub>3</sub>-Ph), 30,09 (C $\beta$ , Ad), 35,43 (C $\gamma$ , Ad), 40,78 (C $\alpha$ , Ad), 66,89 (CH<sub>2</sub>O), 80,63 (C, Ad), 115,64 (C-5), 126,59, 130,10 (4 CH, Ph), 138,88 (1 CH, Ph), 138,96, (C-2), 139,50 (C-6), 140,15 (C-N), 144,26 (C-3), 168,26 (C=O, ester), 171,22 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  408,2 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.3.1.3. Priprava (adamantan-1-il)-2-[2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (**9**)

Spoju **3** (200 mg, 0,87 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V$  = 6 mL) dodaju se spoj **5** (237,6 mg, 0,87 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (120,1 mg, 0,87 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.3.1. Dobiven je svijetlocrveni kristalni produkt **9** (202,4 mg, 55 %) (Slika 16).



Slika 16. Strukturna formula spoja **9**

*t.t.* 153,8 - 154,4 °C.

$R_f$  = 0,51 (etil-acetat : metanol = 5 : 1)

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,61 (br s, 6H, H- $\gamma$ ), 2,04 (br s, 6H, H- $\alpha$ ), 2,06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,12 (br s, 3H, H $\beta$ -Ad), 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6,18 (d, 1H,  $J$ =7,49 Hz, H-5), 7,06-7,11 (m, 2H, H-Ar), 7,34-7,39 (m, 2H, H-Ar), 7,55 (d, 1H,  $J$ =7,50 Hz, H-6).

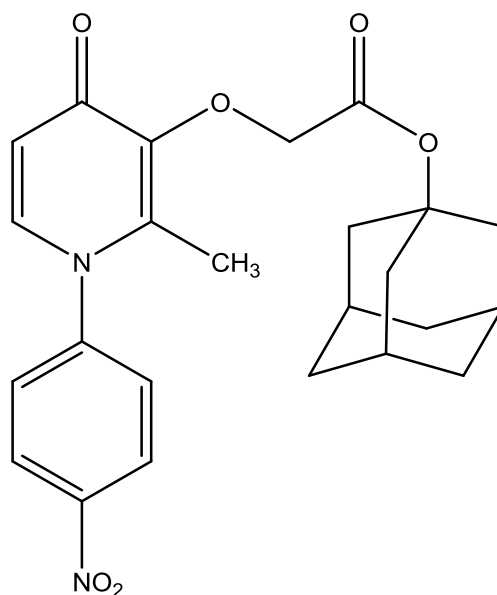
**$^{13}\text{C}$  NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 14,19 (CH<sub>3</sub>), 30,08 (C $\beta$ , Ad), 35,43 (C $\gamma$ , Ad), 40,77 (C $\alpha$ , Ad), 55,44 (OCH<sub>3</sub>), 66,82 (CH<sub>2</sub>O), 80,57 (C, Ad), 114,62 (2 CH, Ph), 115,66 (C-5), 128,08 (2 CH, Ph), 134,29, (C-N), 139,63 (C-6), 140,14 (C-2), 144,26 (C-3), 159,30 (C-OCH<sub>3</sub>), 168,26 (C=O, ester), 171,22 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  424,3 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 3.3.1.4. Priprava (adamantan-1-il)-2-[2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (**10**)

Spoju **4** (46,6 mg, 0,19 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V$  = 4 mL) dodaju se spoj **5** (52,2 mg, 0,19 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (26,4 mg, 0,19 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.3.1. Dobiven je žuti kristalni produkt **10** (40 mg, 48 %) (Slika 17).





Slika 17. Strukturna formula spoja **10**

*t.t.* 218,3 - 219,7 °C.

$R_f$  = 0,68 (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,61 (br s, 6H, H- $\gamma$ ), 2,05 (br s, 6H, H- $\alpha$ ), 2,12 (br s, 6H, CH<sub>3</sub>, H $\beta$ -Ad), 4,79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6,26 (d, 1H,  $J$ =7,53 Hz, H-5), 7,68 (d, 1H,  $J$ =7,55 Hz, H-6), 7,80 (d, 2H,  $J$ =8,79 Hz, H-Ar), 8,40 (d, 2H,  $J$ =8,79 Hz, H-Ar).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 14,40 (CH<sub>3</sub>), 30,12 (C $\beta$ , Ad), 35,46 (C $\gamma$ , Ad), 40,79 (C $\alpha$ , Ad), 66,89 (CH<sub>2</sub>O), 80,72 (C, Ad), 116,15 (C-5), 124,97 (2 CH, Ph), 128,75 (2 CH, Ph), 139,02 (C-6), 139,25 (C-2), 144,55 (C-3), 146,26 (C-N), 147,33 (C-NO<sub>2</sub>), 168,26 (C=O, ester), 171,22 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  439,1 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.4. Priprava cikloheksilnih piridinonskih etera 11-14 Williamsonovom sintezom etera

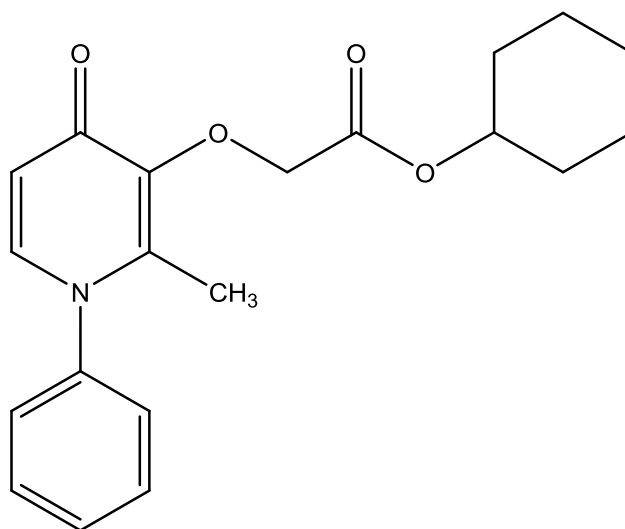
#### 3.4.1. Općeniti postupak priprave etera 11-14

Spojivi **1-4** otope se u suhom acetonu u što se doda cikloheksil-bromacetat (**6**) i bezvodni kalijev karbonat. Reakcijska smjesa se refluksira 24 h. Nakon završetka reakcije aceton se upari, a zaostala smjesa se otopi u diklormetanu (V = 20 mL) i ekstrahira s 5 % natrijevim hidroksidom (V = 20 mL). Organski se ekstrakt osuši na bezvodnom natrijevom sulfatu,

sredstvo za sušenje se odfiltrira i otapalo upari. Produkti **11-14** pročišće se kromatografijom na stupcu silikagela uz etil-acetat : metanol = 5 : 1 kao pokretnu fazu.

#### 3.4.1.1. Priprava cikloheksil-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetata (**11**)

Spoju **1** (200 mg, 1 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V = 6$  mL) dodaju se spoj **6** (221,5 mg, 1 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (138,5 mg, 1 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.4.1. Dobiven je žuti uljasti produkt **11** (131 mg, 38 %) (Slika 18).



Slika 18. Strukturna formula spoja **11**

$R_f = 0,62$  (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

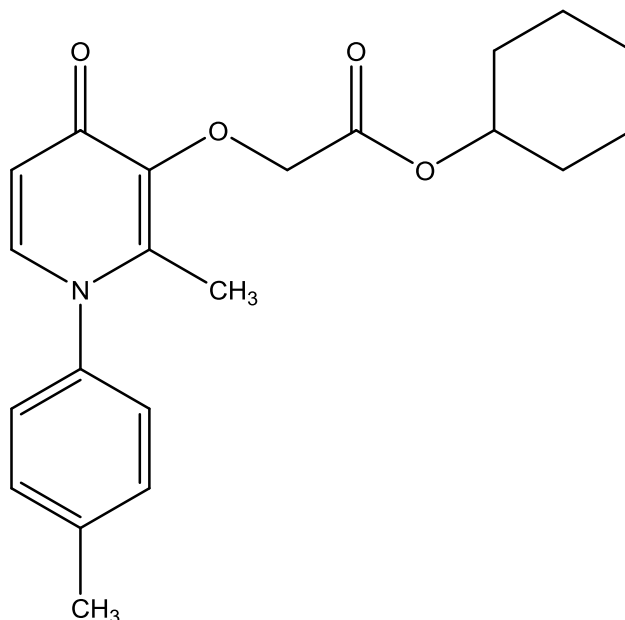
**$^1\text{H NMR}$**  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,15-1,52 (m, 6H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 1,62-1,80 (m, 4H, H- $\alpha$ ), 2,07 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,68-4,89 (m, 1H, CH), 4,89 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,21 (d, 1H,  $J=7,50$  Hz, H-5), 7,43-7,46 (m, 2H, H-Ar), 7,54-7,60 (m, 3H, H-Ar), 7,61 (d, 1H,  $J=7,51$  Hz, H-6).

**$^{13}\text{C NMR}$**  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 14,25 ( $\text{CH}_3$ ), 23,04 ( $\text{C}\beta$ ), 24,68 ( $\text{C}\gamma$ ), 30,95 ( $\text{C}\alpha$ ), 66,60 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 72,42 ( $\text{C-O}$ ), 115,80 (C-5), 126,90, 129,20, 129,71 (5 CH, Ph), 139,36 (C-6), 139,80 (C-2), 141,38 (C-N), 144,29 (C-3), 168,86 ( $\text{C=O}$ , ester), 171,48 ( $\text{C=O}$ ).

**ESI-MS:**  $m/z$  342,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 3.4.1.2. Priprava cikloheksil-2-[2-metil-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (**12**)

Spoju **2** (200 mg, 0,93 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V = 6$  mL) dodaju se spoj **6** (206,3 mg, 0,93 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (128,9 mg, 0,93 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.4.1. Dobiven je kristalni produkt **12** u obliku smeđe ljepljive smjese (180,6 mg, 55 %) (Slika 19).



Slika 19. Strukturna formula spoja **12**

*t.t.* 90,8 - 91,7 °C

$R_f = 0,54$  (etil-acetat : metanol = 5 : 1)

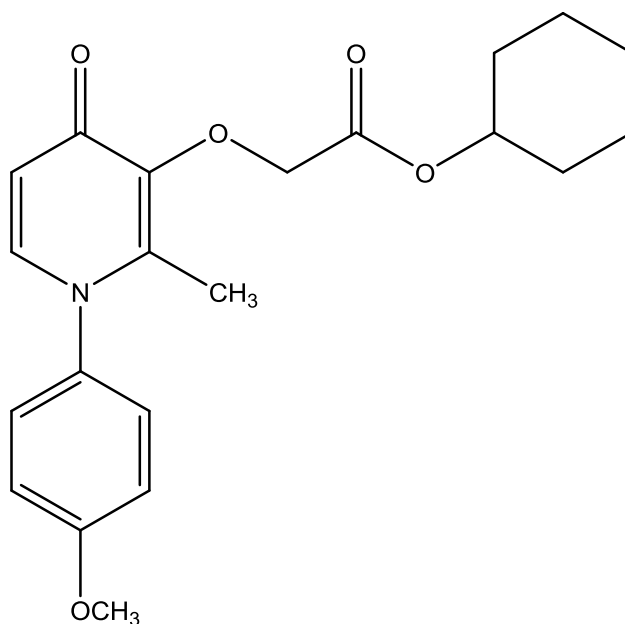
$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,15-1,51 (m, 6H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 1,62-1,79 (m, 4H, H- $\alpha$ ), 2,06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,39 (s, CH<sub>3</sub>-Ph), 4,68-4,75 (m, 1H, CH), 4,88 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,19 (d, 1H,  $J=7,50$  Hz, H-5), 7,30-7,38 (m, 4H, H-Ar), 7,56 (d, 1H,  $J=7,51$  Hz, H-6).

$^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 14,21 (CH<sub>3</sub>), 20,54 (CH<sub>3</sub>-Ph), 23,04 (C $\beta$ ), 24,68 (C $\gamma$ ), 30,95 (C $\alpha$ ), 66,58 (CH<sub>2</sub>O), 72,41 (C-O), 115,77 (C-5), 126,61, 130,09 (4 CH, Ph), 138,84 (1 CH, Ph), 138,97, (C-2), 139,44 (C-6), 139,95 (C-N), 144,27 (C-3), 168,87 (C=O, ester), 171,44 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  356,2 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.4.1.3. Priprava cikloheksil-2-[2-metil-1-(*p*-metoksifenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (13)

Spoju **3** (200 mg, 0,87 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V = 6$  mL) dodaju se spoj **6** (191,9 mg, 0,87 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (120 mg, 0,87 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.4.1. Dobiven je svijetlo smeđi kristalni produkt **13** (143,6 mg, 45 %) (Slika 20).



Slika 20. Strukturna formula spoja **13**

*t.t.* 114,9 - 116,2 °C.

$R_f = 0,51$  (etil-acetat : metanol = 5 : 1)

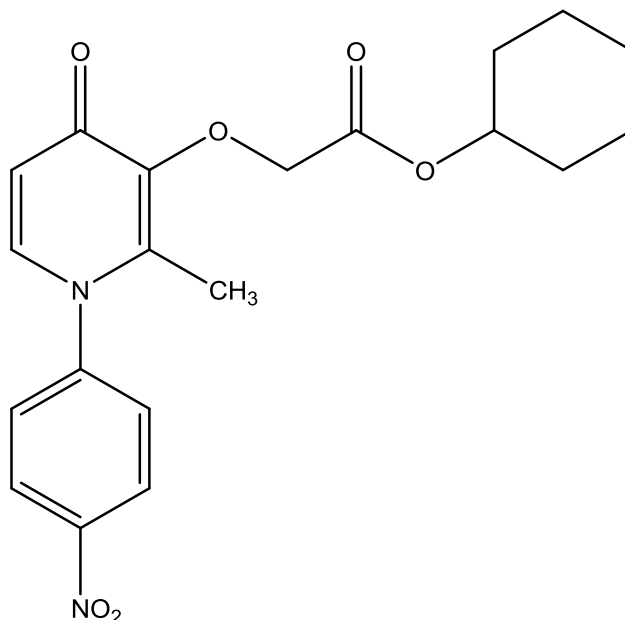
$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,17-1,49 (m, 6H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 1,63-1,79 (m, 4H, H- $\alpha$ ), 2,06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,70-4,74 (m, 1H, CH), 4,89 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,18 (d, 1H,  $J=7,44$  Hz, H-5), 7,06-7,11 (m, 2H, H-Ar), 7,34-7,39 (m, 2H, H-Ar), 7,56 (d, 1H,  $J=7,50$  Hz, H-6).

$^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  / ppm: 14,24 (CH<sub>3</sub>), 23,08 (C $\beta$ ), 24,71 (C $\gamma$ ), 30,98 (C $\alpha$ ), 55,48 (OCH<sub>3</sub>), 66,58 (CH<sub>2</sub>O), 72,43 (C-O), 114,66 (2 CH, Ph), 115,71 (C-5), 128,12 (2 CH, Ph), 134,31 (C-N), 139,74 (C-6), 140,31 (C-2), 144,22 (C-3), 159,33 (C-OCH<sub>3</sub>), 168,91 (C=O, ester), 171,46 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  372,1 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 3.4.1.4. Priprava cikloheksil-2-[2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (**14**)

Spoju **4** (104,5 mg, 0,42 mmol) otopljenom u suhom acetonu ( $V = 6$  mL) dodaju se cikloheksil-bromacetat (93,8 mg, 0,42 mmol) i bezvodni kalijev karbonat (88,7 mg, 0,64 mmol). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.4.1. Dobiven je žuti kristalni produkt **14** (142,6 mg, 87 %) (Slika 21).



Slika 21. Strukturna formula spoja **14**

*t.t.* 139,8 - 141,3 °C.

$R_f = 0,58$  (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,15-1,52 (m, 6H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 1,61-1,81 (m, 4H, H- $\alpha$ ), 2,17 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,69-4,76 (m, 1H, CH), 4,89 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,26 (d, 1H,  $J=7,58$  Hz, H-5), 7,68 (d, 1H,  $J=7,57$  Hz, H-6), 7,77-7,82 (m, 2H, H-Ar), 8,38-8,43 (m, 2H, H-Ar).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 14,30 ( $\text{CH}_3$ ), 23,04 ( $\text{C}\beta$ ), 24,67 ( $\text{C}\gamma$ ), 30,94 ( $\text{C}\alpha$ ), 66,69 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 72,47 (CO), 116,13 (C-5), 124,93, 128,69 (4 CH, Ph), 138,96 (C-6), 139,27 (C-2), 144,48 (C-3), 146,20 (C-N), 147,33 (C- $\text{NO}_2$ ), 168,78 (C=O, ester), 171,71 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  387,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

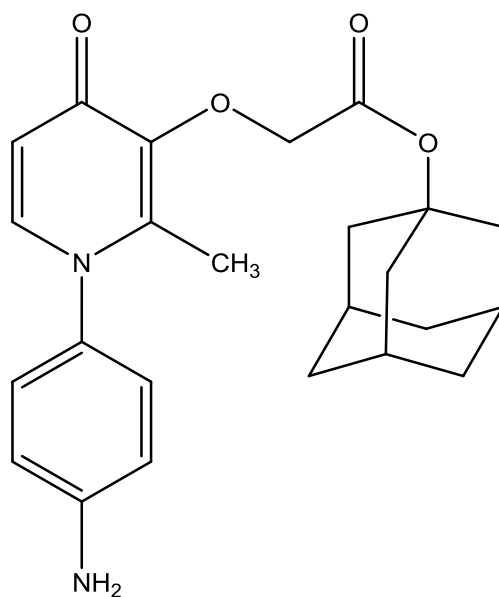
### 3.5. Priprava etera **15** i **16** redukcijom etera **10** i **14**

#### 3.5.1. Općeniti postupak priprave etera **15** i **16**

Spojevima **10** i **14** dodani su diklormetan, metanol i Pd/C. Hidrogeniranje je provedeno pod tlakom od 29 psi u trajanju od 1,5 h. Nakon završetka reakcije, reakcijska smjesa je analizirana tankoslojnom kromatografijom gdje je korišten sustav otapala etil-acetat : metanol = 5 : 1 kao pokretna faza uz UV detekciju i prskanje ninhidrinom uz naknadno zagrijavanje. Reakcijska smjesa se profiltrira, a otapalo upari.

##### 3.5.1.1. Priprava (adamantan-1-il)-2-[1-(*p*-aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (**15**)

Spoju **10** (30 mg, 68,4  $\mu$ mol) dodani su diklormetan (2 mL), metanol (2 mL) i Pd/C (10 %, 7,5 mg). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.5.1. Izoliran je žuti uljasti produkt **15** (15,5 mg, 56 %) (Slika 22).



Slika 22. Strukturna formula spoja **15**

$R_f = 0,42$  (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

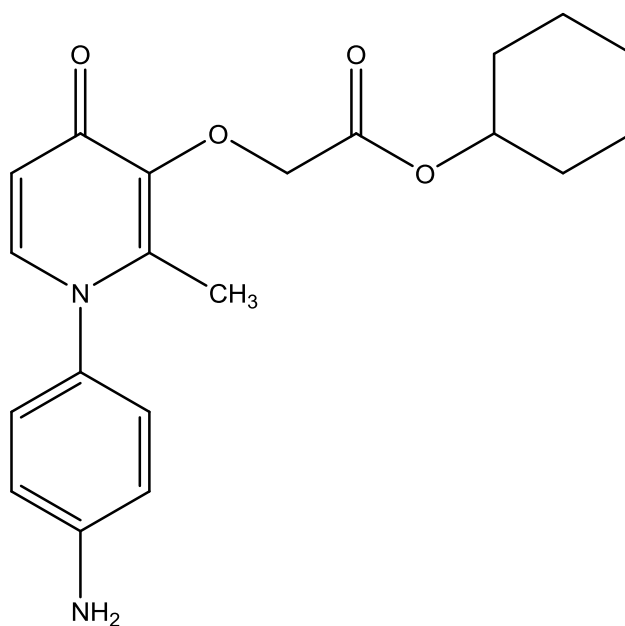
$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,61 (br s, 6H, H- $\gamma$ ), 2,04 (br s, 6H, H- $\alpha$ ), 2,05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,12 (br s, 3H, H $\beta$ -Ad), 4,79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6,14 (d, 1H,  $J=7,46$  Hz, H-5), 6,61-6,64 (m, 2H, H-Ar), 6,98-7,02 (m, 2H, H-Ar), 7,49 (d, 1H,  $J=7,48$  Hz, H-6).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 14,17 ( $\text{CH}_3$ ), 30,09 ( $\text{C}\beta$ , Ad), 35,44 ( $\text{C}\gamma$ , Ad), 40,78 ( $\text{C}\alpha$ , Ad), 66,77 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 80,56 (C, Ad), 113,61 (2 CH, Ph), 115,52 (C-5), 127,16 (2 CH, Ph), 129,80 (C-2), 139,92 (C-6), 140,61 (C-N), 144,17 (C-3), 149,33 (C- $\text{NH}_2$ ), 168,35 (C=O, ester), 171,29 (C=O).

**ESI-MS:**  $m/z$  409,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 3.5.1.2. Priprava cikloheksil-2-[1-(*p*-aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetata (**16**)

Spoju **14** (70 mg, 181,2  $\mu\text{mol}$ ) dodani su diklormetan (3 mL), metanol (3 mL) i Pd/C (10 %, 17,5 mg). Daljnji postupak obrade i pročišćavanja reakcijske smjese opisan je u poglavlju 3.5.1. Izoliran je žuto zlatni kristalni produkt **16** (61,6 mg, 85 %) (Slika 23).



Slika 23. Strukturna formula spoja **16**

*t.t.* 160,3 - 161,6 °C.

$R_f$  = 0,45 (etil-acetat : metanol = 5 : 1).

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  / ppm: 1,15-1,50 (m, 6H, H- $\beta$ , H- $\gamma$ ), 1,62-1,79 (m, 4H, H- $\alpha$ ), 2,07 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,69-4,74 (m, 1H, CH), 4,88 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,17 (d, 1H,  $J=7,45$  Hz, H-5), 6,61-6,65 (m, 2H, H-Ar), 6,98-7,02 (m, 2H, H-Ar), 7,52 (d, 1H,  $J=7,46$  Hz, H-6).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  / ppm: 14,18 ( $\text{CH}_3$ ), 23,05 ( $\text{C}\beta$ ), 24,69 ( $\text{C}\gamma$ ), 30,95 ( $\text{C}\alpha$ ), 66,58 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 72,40 ( $\text{CO}$ ), 113,63 (2 CH, Ph), 115,44 ( $\text{C-5}$ ), 127,14 (2 CH, Ph), 129,78 ( $\text{C-N}$ ), 140,05 ( $\text{C-6}$ ), 141,00 ( $\text{C-2}$ ), 144,07 ( $\text{C-3}$ ), 149,35 ( $\text{C-NH}_2$ ), 168,89 ( $\text{C=O}$ , ester), 171,04 ( $\text{C=O}$ ).

**ESI-MS:**  $m/z$  357,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



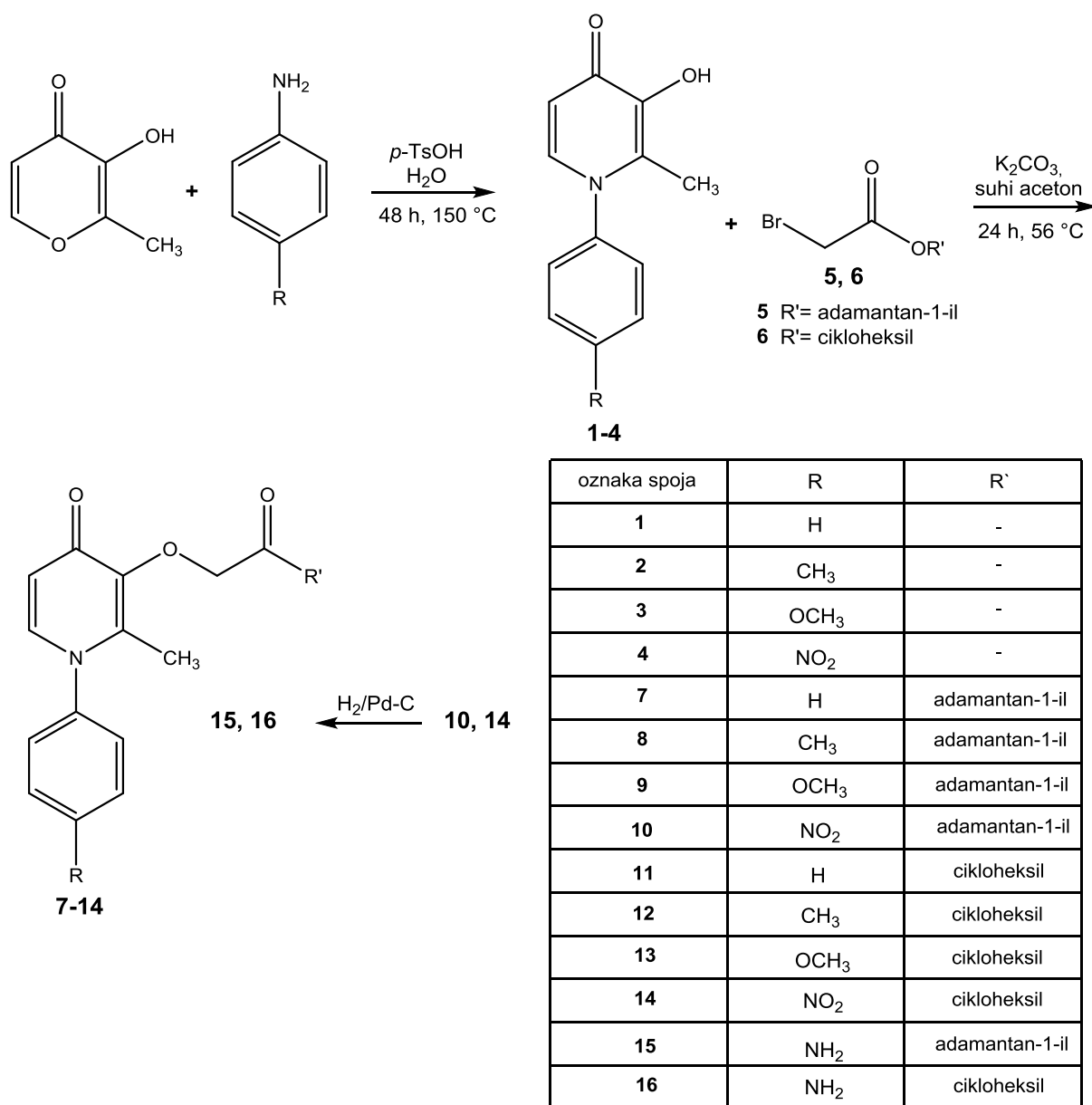
#### **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. UVOD

Za pripravu *N*-aril supstituiranih 3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (spojevi **1-4**) u ovome je radu korištena izravna metoda pripreme uz dodatak kiselog katalizatora. Naime, poznato je da je priprava *N*-supstituiranih derivata 3-hidroksipiridin-4-ona (3,4-HP) praćena niskim prinosima i relativno zahtjevnom izolacijom produkta iz reakcijske smjese.<sup>1</sup> U prethodnim istraživanjima provedenima na Zavodu za organsku kemiju pokazalo se da se dodatkom kiselog katalizatora može utjecati na porast prinosa.<sup>10</sup> U tu svrhu u sintezama je korištena katalitička količina *para*-toluensulfonske kiseline (*p*-TsOH). Kao polazni spojevi za pripravu *N*-aril supstituiranih derivata 3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona korišteni su 3-hidroksi-2-metilpiran-4-on (maltol) i aromatski amini – anilin i *para* supstituirani derivati anilina (*p*-metil-, *p*-metoksi- i *p*-nitroanilin) (Shema 12).

Osnovni piridinoni **1-4** strukturno su modificirani te su pripremljeni njihovih lipofilni adamantilni (**7-10, 15**) i cikloheksilni (**11-14, 16**) derivati (Shema 16). Kao donor adamantilne podjedinice korišten je (adamantan-1-il)-bromacetat (**5**), a cikloheksilne podjedinice cikloheksil-bromacetat (**6**). Spojevi **5** i **6** pripremljeni su Fischerovom esterifikacijom bromoctene kiseline i alkohola adamantan-1-ola i cikloheksanola uz sumpornu kiselinu kao katalizator. Sinteza adamantilnih i cikloheksilnih piridinonskih etera **7-14** provedena je Williamsonovim postupkom uz bezvodni kalijev karbonat kao bazu pri čemu je provedena strukturna modifikacija položaja 3 osnovnog 3,4-HP prstena. Dodatno, dva su piridinonska etera, spojevi **10** i **14**, s nitro-skupinom u *para* položaju arilnog dijela reducirani u odgovarajuće amino-derivate, spojeve **15** i **16**.



Shema 12. Shematski prikaz priprave svih spojeva u sklopu ovog diplomskog rada

Adamantilni i cikloheksilni lipofilni derivati odabranih 3,4-HP, spojevi **7-16**, pripremljeni su s ciljem ispitivanja njihovog biološkog učinka, ponajprije *in vitro* antitumorske aktivnosti.

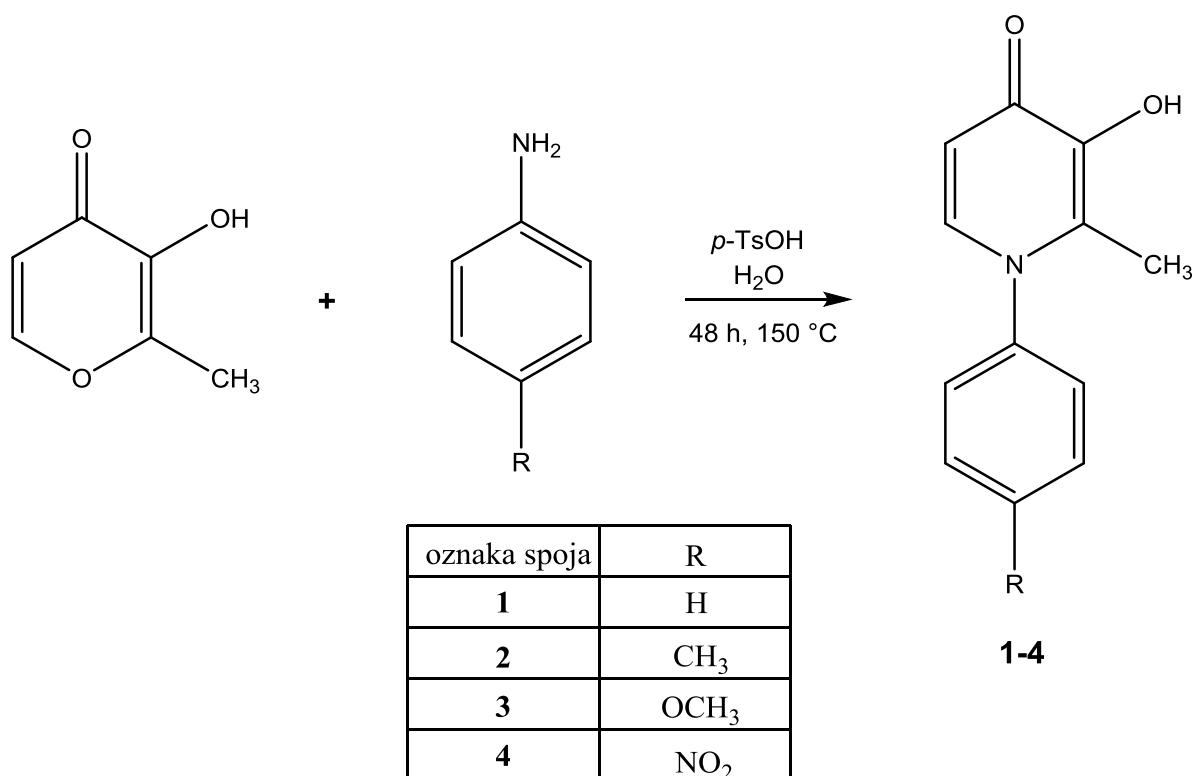
#### 4.2. Priprava *para* supstituiranih *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona (1-4)

Spojevi **1-4** pripremljeni su u jednom sintetskom koraku korištenjem izravne metode (Shema 17). Reakcija se provodila zagrijavanjem vodene otopine reaktanata i kiselog katalizatora u hermetički zatvorenoj staklenoj cijevi (autoklav) na 150 °C tijekom 2 dana. Kao polazni

spojevi korišteni su maltol i anilin odnosno *para*-supstituirani derivati anilina (*p*-toluidin, *p*-anisidin, *p*-nitroanilin) u ekvimolarnim količinama uz dodatak *p*-toluensulfonske kiseline (*p*-TsOH) kao katalizatora u deset puta manjem molarnom omjeru.

Od dvije literaturno poznate metode pripreme 3,4-HP, Harrisova metoda<sup>11</sup> i izravna metoda, u ovome radu korištena je jednostavnija izravna metoda.<sup>14</sup> Ova se metoda može provesti na dva načina: zagrijavanjem vodene otopine reaktanata u uvjetima refluksa u trajanju od 3-7 dana<sup>1, 12</sup> ili zagrijavanjem vodene reakcijske smjese u hermetički zatvorenoj staklenoj cijevi na 150 °C (autoklav) u trajanju od 2 dana.<sup>1, 14</sup> Reakcija u oba slučaja rezultira relativno niskim prinosima produkta.<sup>2</sup> U ovome je radu korištena nešto modificirana izravna metoda uz zagrijavanje u autoklavu. Reakcija se zagrijava 2 dana, a kao katalizator korištena je *p*-toluensulfonska kiselina. Korištenjem kiselog katalizatora reakcija se ubrzava i povećava joj se prinos zbog smanjene vjerojatnosti da će nezaštićena 3-hidroksilna skupina maltola u kiselim uvjetima biti podložna Michaelovom tipu adicije s međuproduktima koji su nastali tijekom aminacijskog koraka. U takvim uvjetima dušikov atom anilina dovoljno je nukleofilan za napad na C-2 ili C-6 položaj maltola jer aril-amini, za razliku od alkil-amina, nisu u potpunosti protonirani te u ravnoteži postoji mala količina neprotoniranog anilina (Shema 6). Mehanizam ove reakcije pripada Michaelovoj adiciji u kojoj je Michaelov donor anilin, a Michaelov akceptor  $\alpha,\beta$ -nezasićeni sustav maltola (Shema 4).

Korištenjem izravne metode najprije je iz maltola i anilina uz dodatak kiselog katalizatora (*p*-TsOH) dobiven kristalni produkt 1-fenil-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-on (**1**) u 32 % prinosu. Nakon optimiziranja reakcijskih uvjeta, analognim postupkom pripravljena su još tri derivata *N*-aril-3,4-HP, spojevi **2-4** (Shema 13).



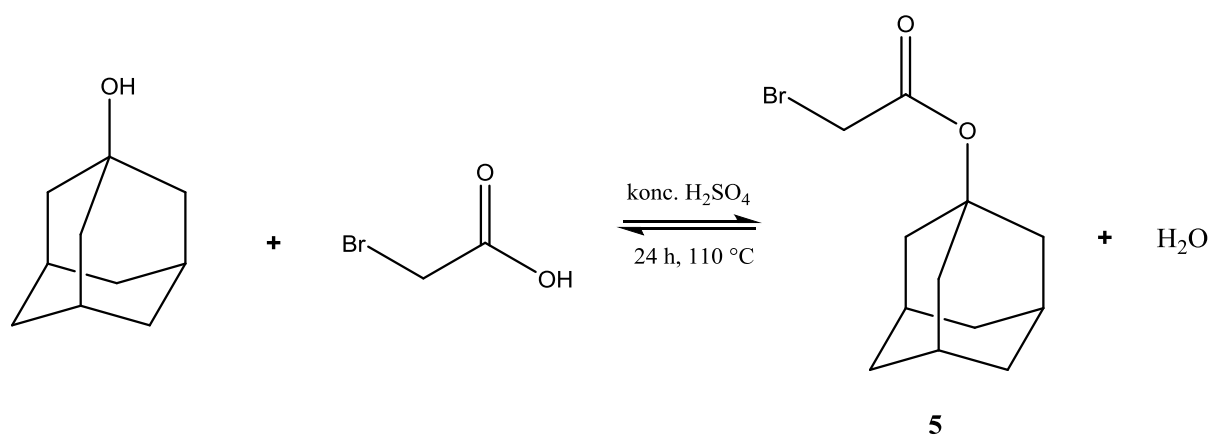
Shema 13. Priprava spojeva **1-4**

Spoj **2** (3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-on) pripravljen je zagrijavanjem maltola i *p*-toluidina u 21 % prinosu. Spoj **3** (3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on) pripravljen je iz maltola i *p*-anisidina u prinosu od 52 %. Za pripravu spoja **4** (3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-ona) kao polazni spojevi korišteni su maltol i *p*-nitroanilin te je dobiven produkt **4** u niskom prinosu od 13 %. Svi su derivati 3,4-HP izolirani u čvrstom agregacijskom stanju.

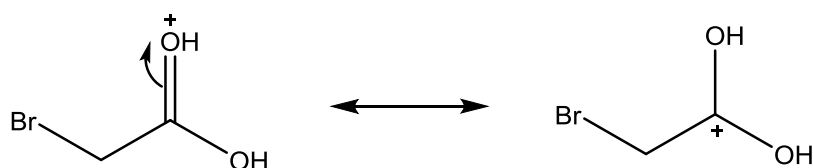
#### 4.3. Priprava adamantilnih i cikloheksilnih estera bromoctene kiseline (5-6)

Spoj **5** ((adamantan-1-il)-bromacetat) pripravljen je Fischerovom esterifikacijom iz bromoctene kiseline i adamantan-1-ola u omjeru 1 : 1,7 uz sumpornu kiselinu kao katalizator (Shema 14). Kao otapalo koristio se suhi toluen. Pošto je Fischerova esterifikacija ravnotežna (reverzibilna) reakcija s relativno niskom konstantom ravnoteže, da bi se ravnoteža pomaknula u desno (na stranu produkata) ili se dodaje jedan reaktant u suvišku ili se uklanja jedan od produkata, ester ili voda, iz reakcijske smjese. U našem slučaju korišten je drugi

pristup. Reakcijska smjesa se zagrijava uz refluks 24 h uz Dean-Starkov nastavak za uklanjanje vode koja ima niže vrelište od nastalog estera. Sumporna kiselina služi kao katalizator jer protonira kisik karboksilne skupine bromoctene kiseline čime se povećava elektrofilnost karbonilnog ugljika i time ubrzava reakcija (Shema 15). Produkt reakcije (adamantan-1-il)-bromacetat (**5**) izoliran je nakon kromatografskog pročišćavanja u prinosu od 64 %.



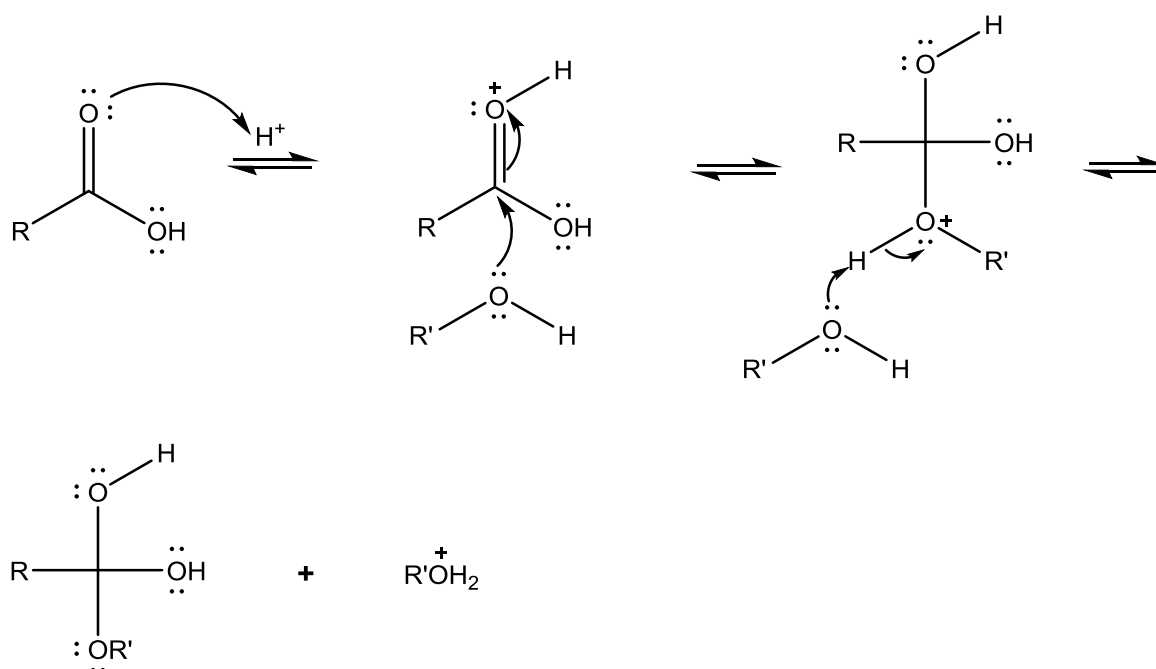
Shema 14. Priprava spoja **5**



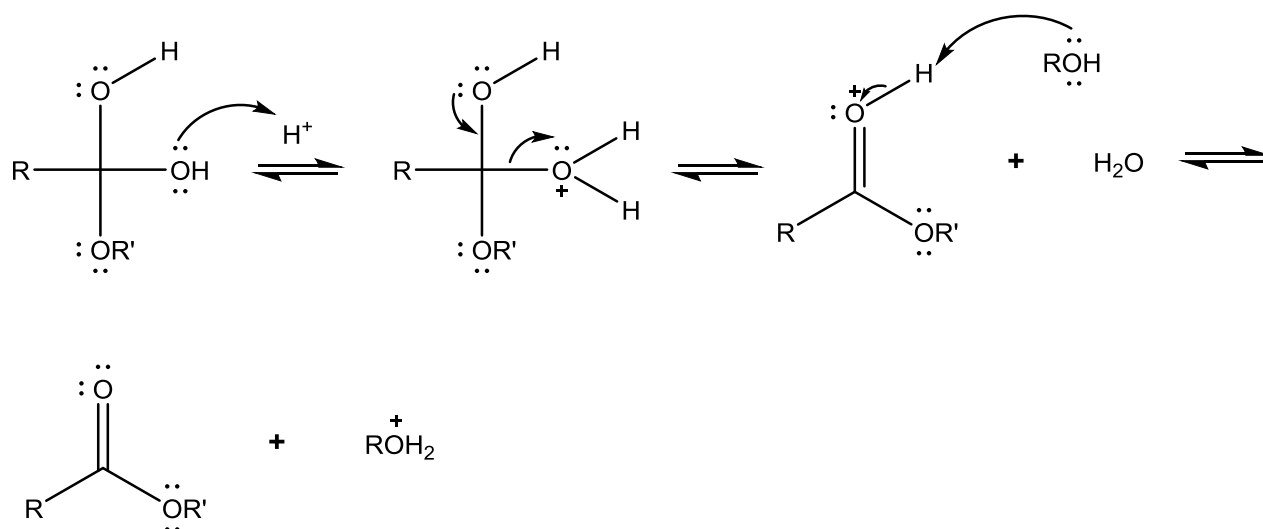
Shema 15. Rezonantni oblici protonirane bromoctene kiseline

Mehanizam Fischerove esterifikacije je kiselinom katalizirana nukleofilna acilna supstitucija (Shema 16).<sup>26</sup> Ugljikov atom karbonilne skupine karboksilne kiseline nije dovoljno elektrofilan te mu se elektrofilnost povećava upotrebom kiselog katalizatora koji protonira kisik karbonilne skupine (Shema 16).<sup>26</sup> Nukleofilni napad alkohola, praćen gubitkom protona, daje hidrat estera, nakon čega dolazi do gubitka molekule vode. Gubitak protona s druge hidroksilne skupine dovodi do nastanka estera. Osim iz karboksilnih kiselina, esteri se uobičajeno pripremaju iz reaktivnijih derivata karboksilnih kiselina, kiselinskih halogenida ili anhidrida.<sup>26</sup>

1. korak: kiselo-bazna adicija alkohola na karbonilnu skupinu

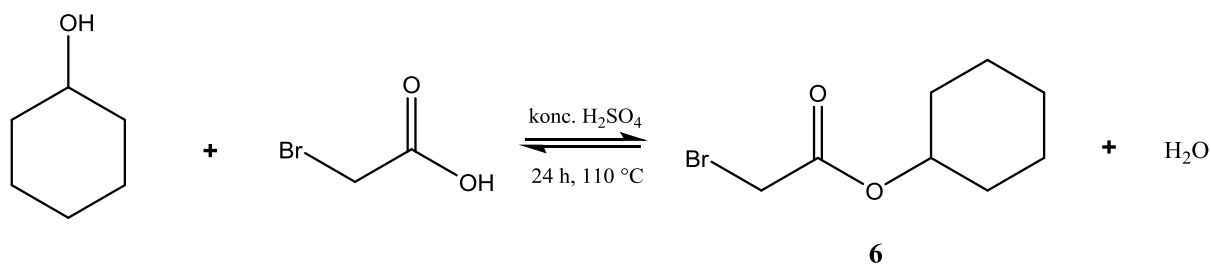


2. korak: kiselinom katalizirano dehidratiranje



Shema 16. Mehanizam Fischerove esterifikacije

Analognim postupkom Fischerove esterifikacije iz bromoctene kiseline i suviška cikloheksanola pripravljen je cikloheksil-bromacetat **6** uz kiseli katalizator (konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) i Dean-Starkov nastavak za uklanjanje vode (Shema 17). Nakon obrađivanja reakcijske smjese i kromatografskog pročišćavanja cikloheksil-bromacetat **6** dobiven je u prinosu od 93 %.



Shema 17. Priprava spoja **6**

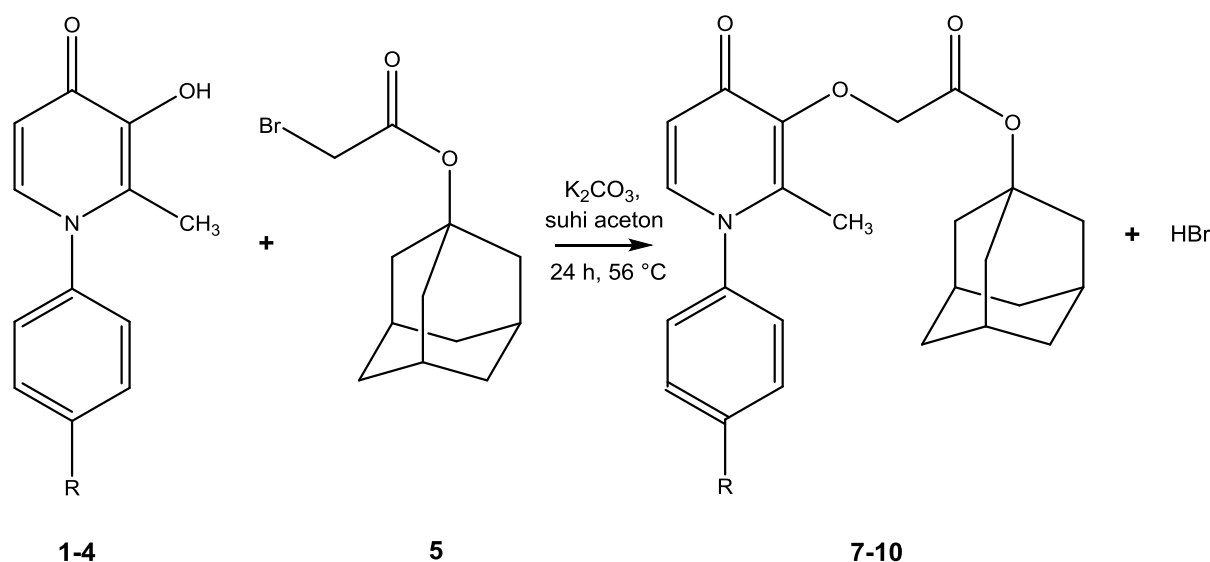
#### 4.4. Priprava lipofilnih adamantilnih eterskih derivata piridinona (7-10)

Za pripravu etera u ovom je radu korištena Williamsonova metoda sinteze etera kao najučinkovitija reakcija za sintezu asimetričnih etera. Ova se reakcija odvija mehanizmom nukleofilne supstitucije ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ). Iz literature je poznato da tipični supstrati za Williamsonovu sintezu etera moraju biti  $1^\circ$  ili eventualno  $2^\circ$  halogenalkani, alkil-sulfati ili alkil-sulfonati. Kao primarni halogenalkan u ovom radu najprije je korišten (adamantan-1-il)-bromacetat (**5**), a zatim i cikloheksil-bromacetat (**6**). U ovoj nukleofilnoj supstitucijskoj reakciji ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ) nukleofil napada halogenalkan sa strane suprotne onoj na kojoj se nalazi izlazna skupina. Proces se odvija u jednom koraku pa je poželjno da supstrat bude što manje sterički ometen. Ukoliko je supstrat tercijaran, prednost pred supstitucijom ima eliminacija. Također, supstrat mora imati dobru izlaznu skupinu kako bi se izbjegla  $\text{E}2$  reakcija, a to je u ovom slučaju bromid.

Polarna protonska otapala solvatacijom smanjuju reaktivnost nukleofila na način da stvaraju vodikove veze s nukleofilom, pa je zbog toga korišten suhi aceton kao polarno aprotosko otapalo koje potpomaže stvaranje vrlo reaktivnih nukleofila. Osim toga, aceton ima dosta nisko vrelište (56 °C), pa je izvrstan za ovu vrstu reakcije jer temperatura reakcije ne smije biti visoka kako ne bi došlo do eliminacije koja ima prednost nad supstitucijom pri višim temperaturama. Isto tako veći nukleofilni atomi su manje solvatizirani, te stoga reaktivniji u polarnim protonskim otapalima. Za pripremu dobrog nukleofila, alkoksida, ovdje je kao baza korišten bezvodni kalijev karbonat.

Spoj **7** ((adamantan-1-il)-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetat pripravljen je Williamsonovom sintezom iz 3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-ona (**1**) i (adamantan-1-il)-bromacetata (**5**) u molarnom omjeru 1 : 1 u suhom acetonu (Shema 18). Kao baza korišten je bezvodni kalijev karbonat u ekvimolarnom omjeru. Reakcijska smjesa se zagrijava 24 h uz refluks acetona. Nakon obrađivanja reakcijske smjese produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela te je dobiven spoj **7** uz prinos od 35 %.





oznaka spoja	R
<b>1, 7</b>	H
<b>2, 8</b>	CH <sub>3</sub>
<b>3, 9</b>	OCH <sub>3</sub>
<b>4, 10</b>	NO <sub>2</sub>

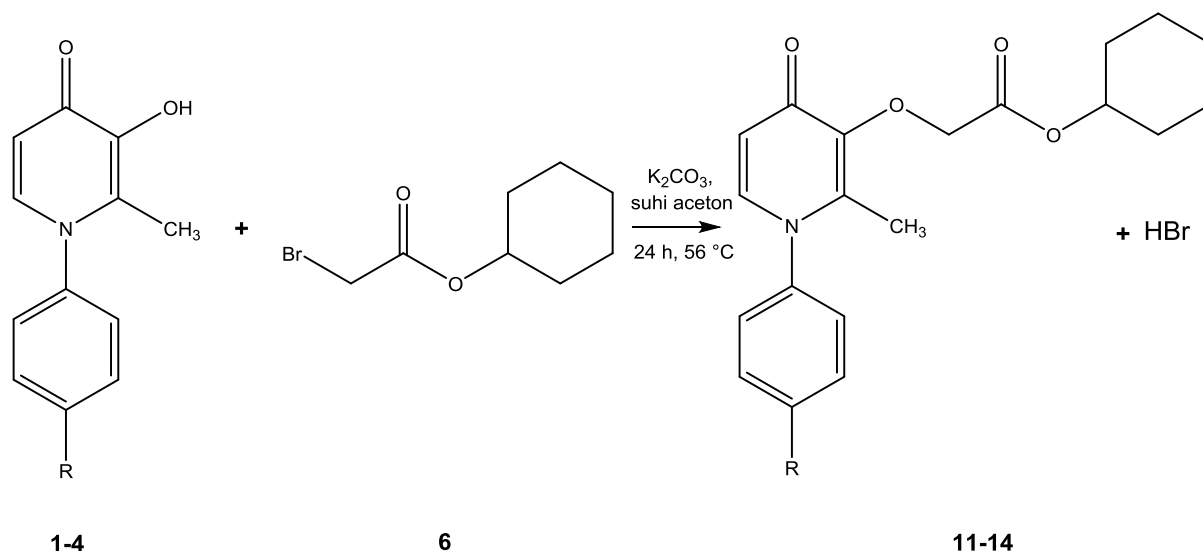
Shema 18. Priprava spojeva **7-10**

Nakon optimiranja reakcijskih uvijeta za pripravu spoja **7**, analognim postupkom Williamsonove sinteze pripremljeni su adamantilni eteri **8-10** (Shema 22). Spoj **8** ((adamantan-1-il)-2-[2-metil-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat) pripremljen je reakcijom 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-ona (**2**) i (adamantan-1-il)-bromacetata (**5**). Nakon obrađivanja reakcijske smjese produkt je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela te je dobiven spoj **8** uz prinos od 48 %. Spoj **9** ((adamantan-1-il)-2-[2- metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat) pripremljen je reakcijom 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-ona (**3**) i (adamantan-1-il)-bromacetata (**5**) uz prinos od 45 %. Reakcijom 3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-ona (**4**) i (adamantan-1-il)-bromacetata (**5**) dobiven je spoj **10** ((adamantan-1-il)-2-[2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat) uz prinos od 55 %.

#### 4.5. Priprava lipofilnih cikloheksilnih eterskih derivata piridinona (**11-14**)

Nakon priprave adamantilnih piridinonskih derivata **7-10**, isti postupak Williamsonove sinteze etera primijenjen je i za pripravu cikloheksilnih etera **11-14**. Spojevi **11-14**

pripravljani su iz derivata 3,4-HP (**1-4**) i cikloheksil-bromacetata (**6**) u omjeru 1 : 1 u suhom acetonu (Shema 19). Kao baza korišten je bezvodni kalijev karbonat u ekvimolarnom omjeru. Reakcijske smjese su u svim slučajevima zagrijavane uz refluks acetona 24 h. Nakon obrađivanja reakcijskih smjesa produkti su pročišćeni kromatografijom na stupcu silikagela.



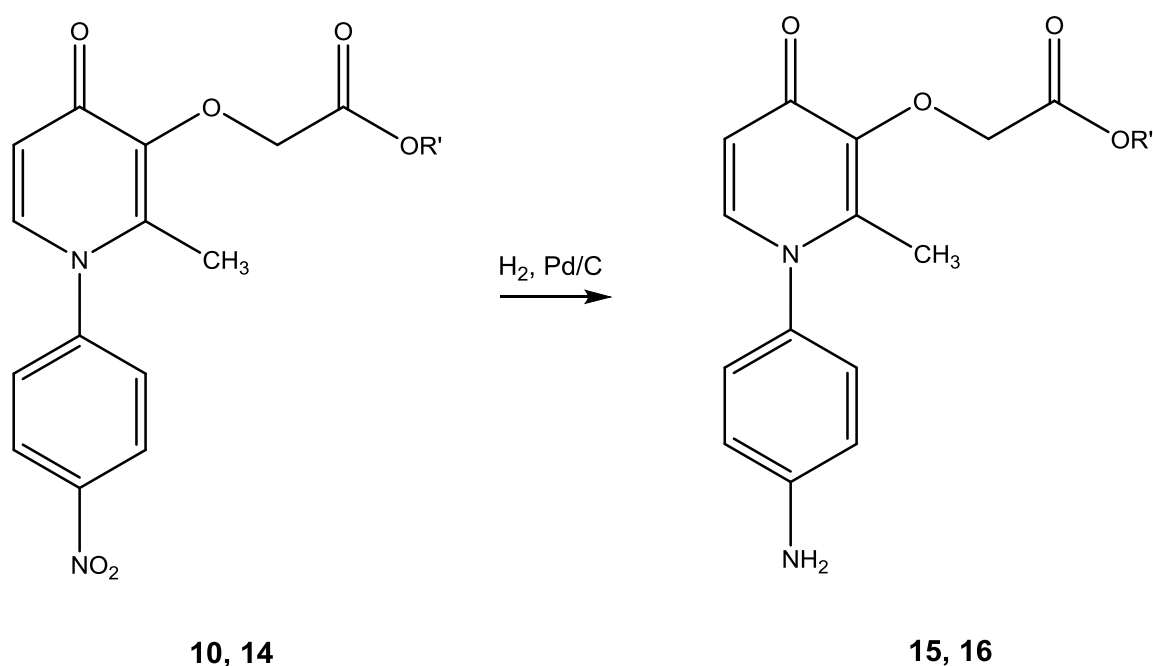
oznaka spoja	R
<b>1, 11</b>	H
<b>2, 12</b>	CH <sub>3</sub>
<b>3, 13</b>	OCH <sub>3</sub>
<b>4, 14</b>	NO <sub>2</sub>

Shema 19. Priprava spojeva **11-14**

Reakcijom spoja **1** i cikloheksil-bromacetata (**6**) pripremljen je cikloheksil-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetat (**11**) u prinosu od 38 %. Spoj **12** (cikloheksil-2-[2-metil-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat) pripremljen je reakcijom spoja **2** i cikloheksil-bromacetata (**6**). Nakon obrađivanja reakcijske smjese i kromatografije na stupcu silikagela spoj **12** je dobiven u prinosu od 87 %. Reakcijom spoja **3** i cikloheksil-bromacetata (**6**) pripremljen je cikloheksil-2-[2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**13**) uz prinos od 73 %. Konačno, reakcijom spoja **4** i cikloheksil-bromacetata (**6**) pripremljen je cikloheksil-2-[2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**14**) uz prinos od 79 %.

#### 4.6. Priprava lipofilnih adamantilnih i cikloheksilnih eterskih derivata **15** i **16** redukcijom spojeva **10** i **14**

Spojevi **15** i **16** pripremljeni su redukcijom *p*-nitro-derivata **10** i **14** vodikom uz Pd/C kao katalizator u smjesi otapala metanol-diklormetan (Shema 20). Katalitičkim hidrogeniranjem dolazi do redukcije nitro-skupine spojeva **10** i **14** u amino-skupinu što je najprije potvrđeno tankoslojnom kromatografijom uz detekciju ninhidrinom. Pri tome dolazi do pojave ružičaste mrlje što je dokaz nastanka primarne amino-skupine. Hidrogeniranje je provedeno pod tlakom od 29 psi u trajanju od 1,5 h. Nakon obrađivanja reakcijskih smjesa izolirani su produkti (adamantan-1-il)-2-[1-(*p*-aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**15**) u prinosu od 56 % i cikloheksil-2-[1-(*p*-aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**16**) u prinosu od 95 %.



oznaka spoja	R'
<b>10, 15</b>	adamantan-1-il
<b>14, 16</b>	cikloheksil

Shema 20. Priprava spojeva **15** i **16**

## **5. ZAKLJUČAK**

## 5. ZAKLJUČAK

- U jednom reakcijskom koraku, iz polaznog maltola i aromatskih amina (anilina, *p*-toluidina, *p*-anisidina i *p*-nitroanilina) uz dodatak kiselog katalizatora u zatvorenoj staklenoj cijevi pripremljeni su spojevi:  
3-hidroksi-1-fenil-2-metilpiridin-4-on (**1**),  
3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metilfenil)piridin-4-on (**2**),  
3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on (**3**) i  
3-hidroksi-2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on (**4**).
- Fischerovom esterifikacijom bromoctene kiseline i alkohola adamantan-1-ola i cikloheksanola uz sumpornu kiselinu kao katalizator pripremljeni su esteri:  
(adamantan-1-il)-bromacetat (**5**) i  
cikloheksil-bromacetat (**6**).
- Williamsonovom sintezom iz piridinonskih derivata **1-4** i (adamantan-1-il)-bromacetata (**5**) pripremljeni su adamantilni piridinonski eteri:  
(adamantan-1-il)-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetat (**7**),  
(adamantan-1-il)-2-[2-metil-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**8**),  
(adamantan-1-il)-2-[2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**9**) i  
(adamantan-1-il)-2-[2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**10**).
- Williamsonovom sintezom iz piridinonskih derivata **1-4** i cikloheksil-bromacetata (**6**) pripremljeni su cikloheksilni piridinonski eteri:  
cikloheksil-2-(1-fenil-2-metilpiridin-4-on-3-iloksi)-acetat (**11**),  
cikloheksil-2-[2-metil-(*p*-metilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**12**),  
cikloheksil-2-[2-metil-1-(*p*-metoksilfenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**13**) i  
cikloheksil-2-[2-metil-1-(*p*-nitrofenil)piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**14**).
- Redukcijom adamantilnog (**10**) i cikloheksilnog (**14**) nitro-derivata uz H<sub>2</sub> / Pd-C pripremljeni su spojevi:  
(adamantan-1-il)-2-[1-(*p*-aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**15**) i

cikloheksil-2-[1-(*p*-aminofenil)-2-metil-1-piridin-4-on-3-iloksi]-acetat (**16**).

- Strukture svih pripremljenih derivata određene su spektroskopijom NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) i spektrometrijom masa (ESI-MS).
- Pripremljeni adamantilni i cikloheksilni derivati *para* supstituiranih *N*-aril-3-hidroksi-2-metilpiridin-4-ona poslužit će za ispitivanje njihove biološke aktivnosti, s naglaskom na njihovo antitumorsko djelovanje.

## **6. LITERATURNÁ VĚLA**

## 6. LITERATURNNA VRELA

1. Ž. Car, V. Petrović Peroković, S. Tomić Pisarović, *Kem. Ind.* **65** (2016) 595–604.
2. W. Kandioller, A. Kurzwernhart, M. Hanif, S. M. Meier, H. Henke, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *J. Organomet. Chem.* **696** (2011) 999–1010.
3. M. A. Santos, S. Chaves, *Future Med. Chem.* **7** (2015) 383–410.
4. M. A. Santos, S. M. Marques, S. Chaves, *Coord. Chem. Rev.* **256** (2012) 240–259.
5. V. Petrović Peroković, B. Prugovečki, Ž. Car, *Croat. Chem. Acta* **86** (2013) 317–323.
6. L. Saghaie, R.C. Hider, *Res. Pharm. Sci.* **3** (2008) 21–30.
7. B. L. Ellis, A. K. Duhme, R. C. Hider, M. Bilayet Hossain, S. Rizvi, D. van der Helm, *J. Med. Chem.* **39** (1996) 3659–3670.
8. D. E. Green, M. L. Bowen, L. E. Scoot, T. Storr, M. Merkel, K. Böhmerle, K. H. Thompson, B. O. Patrick, H. J. Schugar, C. Orvig, *Dalton Trans.* **39** (2010) 1604–1615.
9. L. E. Scott, M. Telpoukhovskaia, C. Rodriguez-Rodriguez, M. Merkel, M. L. Bowen, B. D. G. Page, D. E. Green, T. Storr, F. Thomas, D. D. Allen, P. R. Lockman, B. O. Patrick, M. J. Adam, C. Orvig, *Chem. Sci.* **2** (2011) 642–648.
10. V. Petrović Peroković, A. Gojmerac Ivšić, Ž. Car, S. Tomić, *Croat. Chem. Acta* **87** (2014) 103–109.
11. R. L. N. Harris, *Aust. J. Chem.* **29** (1976) 1329–1334.
12. L. Saghaie, M. Mirmohammad Sadeghi, A. Nikazma, *Res. Pharm.Sci.* **1** (2006) 40–48.
13. L. E. Scott, C. Orvig, *Chem. Rev.* **109** (2009) 4885–4910.
14. K. Jakopčić, B. Tamhina, F. Zorko, M. J. Herak, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **39** (1977) 1201–1203.
15. M. Oftadeha, L. Saghaieb, S. Pirialama, *Iran. Chem. Commun.* **2** (2014) 82–92.
16. I. B. Afanas, *Curr. Med. Chem.* **12** (2005) 2731–2739., B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, *Biochem. J.* **219** (1986) 1–14.
17. M. Taher, L. Saghaie, M. Abrahilmib, *Iran. J. Pharm. Res.* **4** (2004) 201–207.
18. R. R. Crichton, D. T. Dexter, R. J. Ward, *J. Neural. Transm.* **118** (2011) 301–314.
19. H. Zheng, M. B. H. Youdim, M. Fridkin, *ACS Chem. Neurosci.* **1** (2010) 737–746.
20. O. M. Bautista-Aguilera, G. Esteban, M. Chioua, K. Nikolic, D. Agbaba, I. Moraleda, I. Iriepa, E. Soriano, A. Samadi, M. Unzeta, J. Marco-Contelles, *Drug Des. Dev. Ther.* **8** (2014) 1893–1910.
21. R. A. Floyd, K. Hensley, *Neurobiol. Aging* **23** (2002) 795–807.
22. D. Bebbington, N. J. T. Monck, S. Gaur, *J. Med. Chem.* **43** (2000) 2779–2782.



23. <http://fulir.irb.hr/329/> 20.rujna 2016.
24. J. Liu, D. Obando, V. Liao, T. Lifa, R. Codd, *Eur. J. Med. Chem.* **46** (2011) 1949–1963.
25. <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+110-82-7>  
22. rujna 2016.
26. L. G. Wade, JR., *Organic Chemistry*, Pearson, USA, 2013., eight edition.
27. T. W. Graham Solomons, C. B. Fryhle, *Ogranic Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc.,  
USA, 2011., tenth edition.
28. Vogel's Textbook of practical Organic Chemistry, Fourth edition, Longman, London,  
1978.
29. Z. Zhang, S. J. Rettig, C. Orvig, *Inorg. Chem.* **30** (1991) 509–515.

## **7. PRILOZI**

## 7. PRILOZI

### 7.1. POPIS OZNAKA KRATICA I SIMBOLA

1,2-HP	1-hidroksipiridin-2-oni
3,2-HP	3-hidroksipiridin-2-oni
3,4-HP	3-hidroksipiridin-4-oni
AChE	enzim acetilkolin-esteraza
AD	Alzheimerova bolest (engl. <i>Alzheimer disease</i> )
AIDS	sindrom stečenog nedostatka imuniteta (franc. <i>Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis</i> )
Bn	benzil
BnCl	benzil-klorid
Da	Dalton, atomska jedinica mase
DCM	diklormetan
DFO	desferioksamin
DFP	deferipron
DMSO- $d_6$	deuterirani dimetilsulfoksid
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
E2	oznaka za bimolekusknu reakciju eliminacije
ESI-MS	spektrometrija masa uz ionizaciju elektroraspršenjem
FA	Friedreichova ataksija
FL <sub>3</sub>	kompleks željeza i 3 liganda
HA	općenita formula kiselina
HCl	klorovodična kiselina
HP	hidroksipiridinoni
log $P$	koeficijent raspodjele
MHz	megaherc
MS	spektrometrija masa

$m/z$	omjer mase i naboja
NaX	natrijev halogenid
NMR	spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije
$p$	<i>para</i>
PD	Parkinsonova bolest (engl. <i>Parkinson disease</i> )
Pd / C	paladij na ugljiku
ppm	djelova na milion (eng. <i>parts per million</i> )
psi	jedinica za tlak (eng. <i>pound per square inch</i> )
$p$ -TsOH	$p$ -toluensulfonska kiselina
R	radikal
$R_f$	faktor zaostajanja (eng. <i>retention factor</i> )
RNA	ribonukleinska kiselina
RNH <sub>2</sub>	općenita strukturna formula primarnog amina
ROR	općenita strukturna formula etera
ROS	reaktivne kisikove vrste (engl. <i>reactive oxygen species</i> )
RR	ribonukleotid-reduktaza
S <sub>N</sub> 2	oznaka za bimolekulsku nukleofilnu supstituciju
TMS	tetrametilsilan
$t.t.$	temperatura taljenja
UV	ultraljubičasto zračenje (eng. <i>ultraviolet</i> )
$\delta$ / ppm	kemijski pomak u ppm

## **7.2. ŽIVOTOPIS**

Ime i prezime: Ivana Fržić

Datum i mjesto rođenja: 12. listopada 1992., Bjelovar, Hrvatska

### **Obrazovanje:**

2007. – 2011. Medicinska škola Bjelovar, smjer: Farmaceutski tehničar, Bjelovar.

2011. – 2014. Preddiplomski studij kemije, Odjel za kemiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

2014. – 2016. Diplomski studij kemije na Kemijskom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, istraživački smjer; grane analitička i organska kemija.

Diplomski rad izradila sam u Zavodu za organsku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Vesne Petrović Peroković na temu: Priprava lipofilnih eterskih derivata 3-hidroksipiridin-4-ona i alkil-bromacetata.

### **Sudjelovanje na znanstvenim i stručnim skupovima**

23. – 25. rujna 2015. Znanstvena konferencija Application of NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Industry (Pharma NMR), Crveni otok, Rovinj.